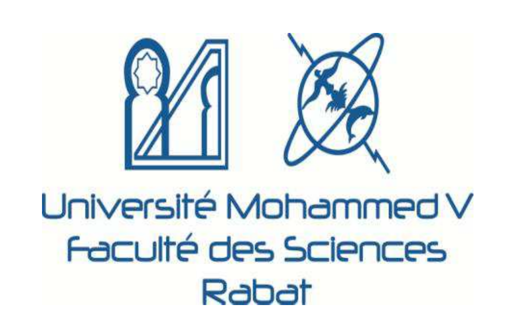
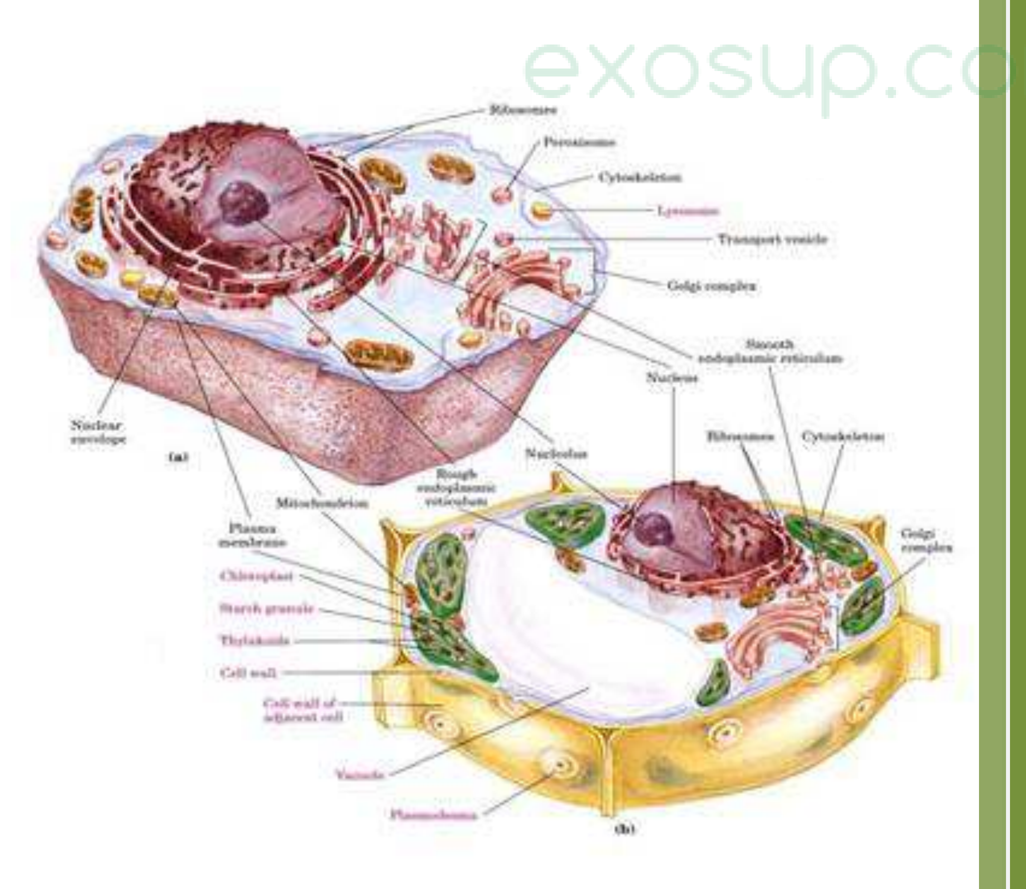


Module M 1
Biologie cellulaire
Automne 2017

Cours de biologie cellulaire



Professeur
Zine El Abidine TRIQUI

Programme

Chapitre 1

Généralités sur la cellule

Chapitre 2

Constitution chimique des êtres vivants

Chapitre 3

Méthodes d'étude de la cellule

Chapitre 4

La membrane plasmique

Chapitre 5

Le hyaloplasme

Chapitre 6

Le noyau

Chapitre 7

Les systèmes de conversion d'énergie

Chapitre 8

Les systèmes endomembranaires

Chapitre 1

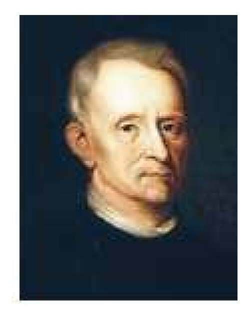
Généralités sur la cellule

1. Historique

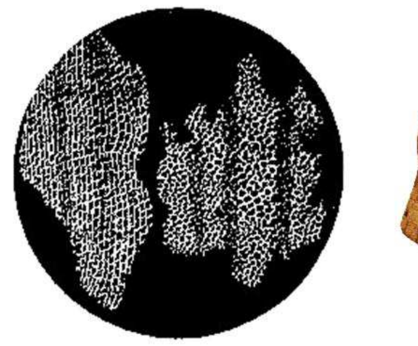
L'histoire de la biologie cellulaire est étroitement liée aux progrès de l'humanité dans le domaine de l'optique et la mise au point de lentilles agrandissantes et par la suite la découverte et le perfectionnement des microscopes.

Les premiers microscopes composés ont été mis au point à la fin du XVIe siècle ce qui a activé les recherches sur les objets microscopiques.

A partir de cette époque on peut résumer l'histoire de la biologie cellulaire comme suit:



- L'anglais Robert Hooke (1665) propose, pour la première fois, le terme cellule (petite chambre) en observant des coupes de liège avec un microscope rudimentaire à une seule lentille (en fait des cellules végétales mortes).





Coupe de liège décrite par Robert Hooke (1665)



- Le hollandais Antony Van Leeuwenhoek (1674) décrit plusieurs micro-organismes vivants (protistes, bactéries).





Microscope d'Antony Van Leeuwenhoek (G) et de Robert Van Hook (D)



MATTHIAS SCHLEIDEN



THEODOR SCHWANN

Les allemands Mathias Schleiden et Theodor Schwann (1838-1839), suite à l'observation de multiples organismes animaux et végétaux, parviennent à la formulation de la théorie cellulaire à travers deux principes:

- **Principe 1:Tous les organismes sont constitués d'une ou de plusieurs cellules.**

- **Principe 2: La cellule est l'unité structurale de la vie.**



Louis pasteur a par la suite réfuté la génération spontanée.

La même année, l'allemand Rudolph Virschow (1855) a énoncé le 3e principe:

- **Principe 3: Les cellules ne peuvent provenir que de la division d'une cellule préexistante. (omnis cellula ex cellula)**



Les progrès incessants dans les équipements microscopiques ont permis l'identification des principales structures cellulaires :

1850 : distinction de la paroi et du protoplasme dans des zoospores d'algues, par THURET.

1857 : découverte des mitochondries dans des cellules musculaires (KOLLIKER).

1875 : description des chromosomes par STRASBURGER et FLEMMING.

1877 : mise en évidence de la membrane plasmique (PFEFFER).

1880-1883 : analyse des plastes des cellules végétales (SCHIMPER, MEYER).

1885 : découverte des propriétés osmotiques des vacuoles végétales (DE VRIES), identifiées dès 1844 par NAEGELI.

1890-1897 : redécouverte des mitochondries par ALTMANN et BENDA.

1897 : identification du réticulum endoplasmique (GARNIER).

1898 : mise en évidence de l'appareil de GOLGI.

2. Définition

- **La cellule est l'unité de base de point de vue structure et fonction des organismes biologiques.**

- **Toute cellule dérive d'une cellule préexistante par division.**

3. Echelle des dimensions cellulaires

Les dimensions cellulaires sont de l'ordre du µm: 0,1 pour les bactéries jusqu'à environ 30 µm pour les cellules animales et végétales.

Ce sont des dimensions intermédiaires entre celles des molécules (de l'ordre du nm) et des organismes (au-delà de 0,1 mm).

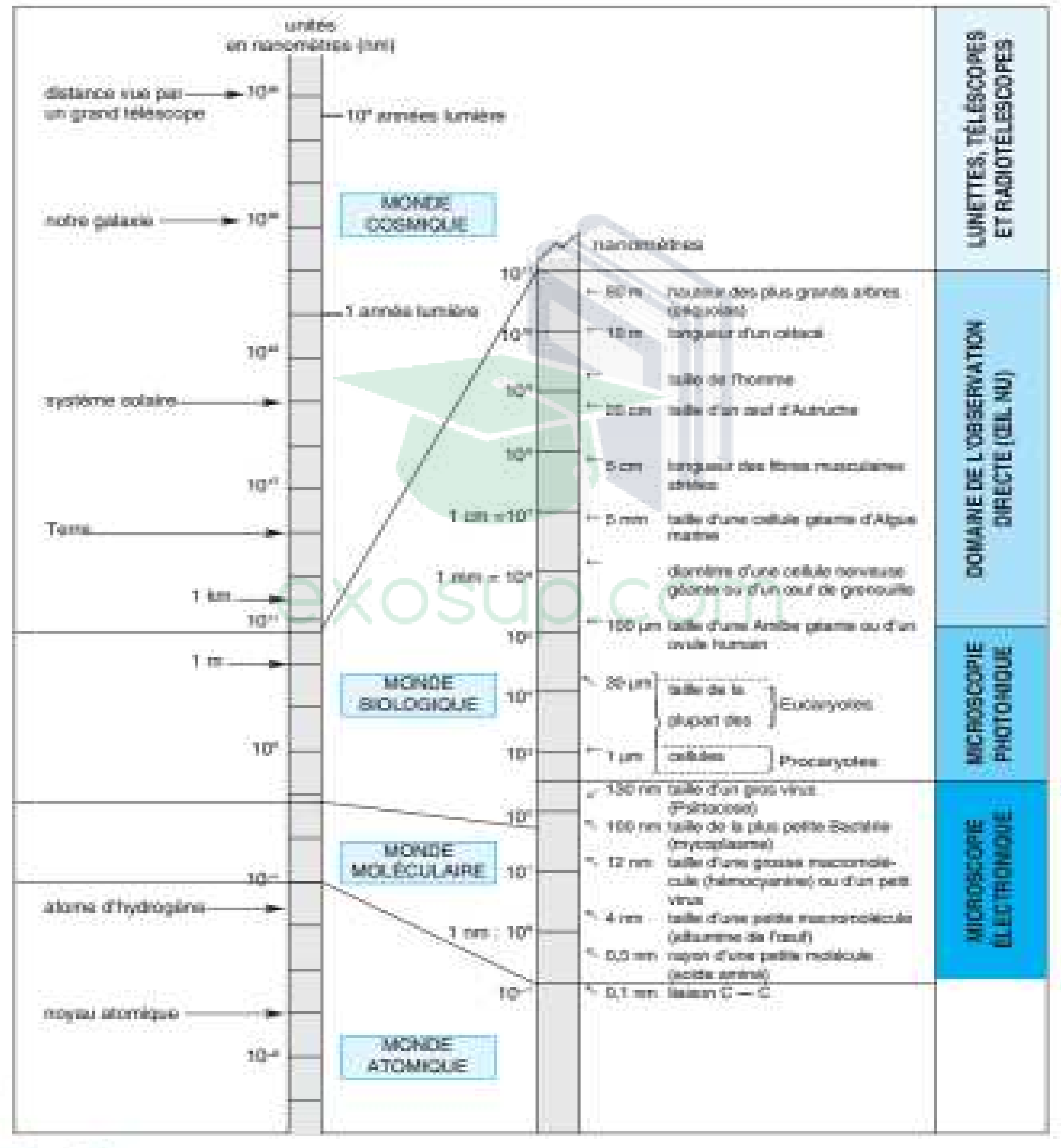
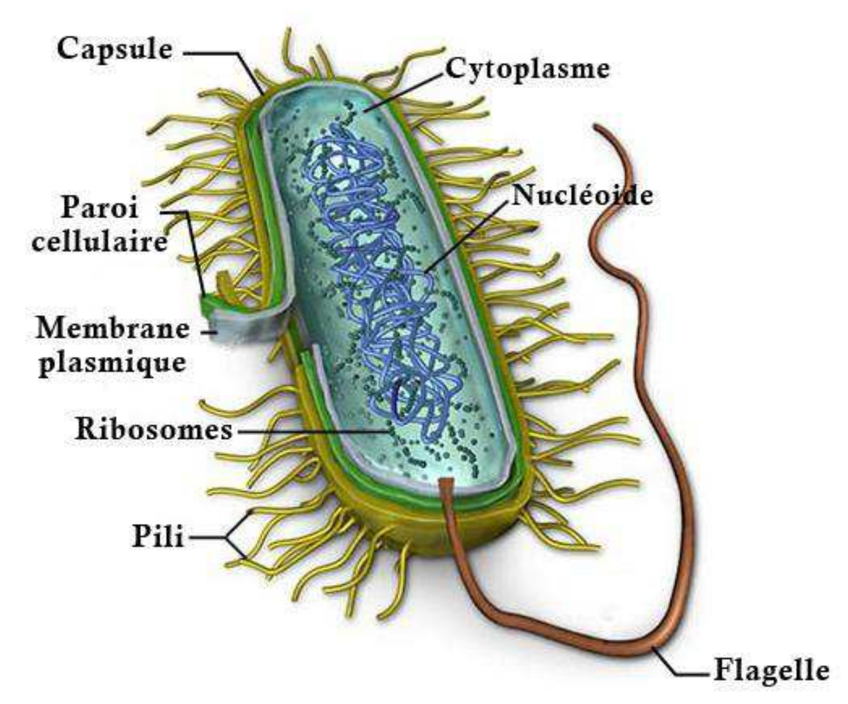


Figure 1.2
Diagramme représentant l'échelle des dimensions aux niveaux atomique, moléculaire, biologique et cosmique L'unité choisie est le nanomètre. (D'après A. Lehninger, 1974)

4. Différents types de cellules

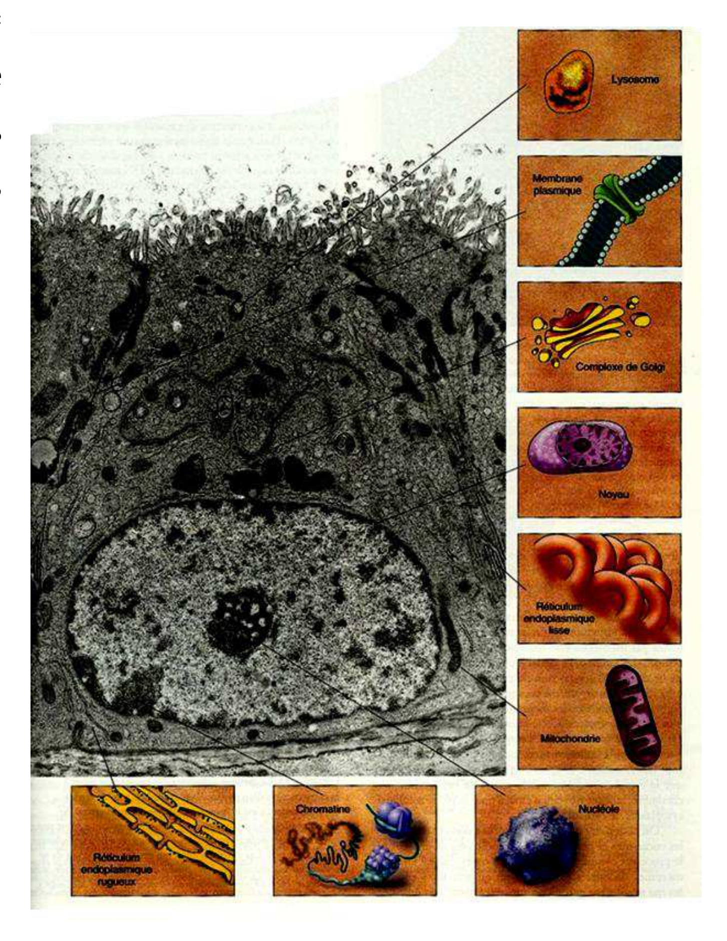
Il existe deux types fondamentaux de cellules:

- Les cellules procaryotes (pro = primitif; caryon = noyau)
- Les cellules eucaryotes (eu =vrai, caryon= noyau)

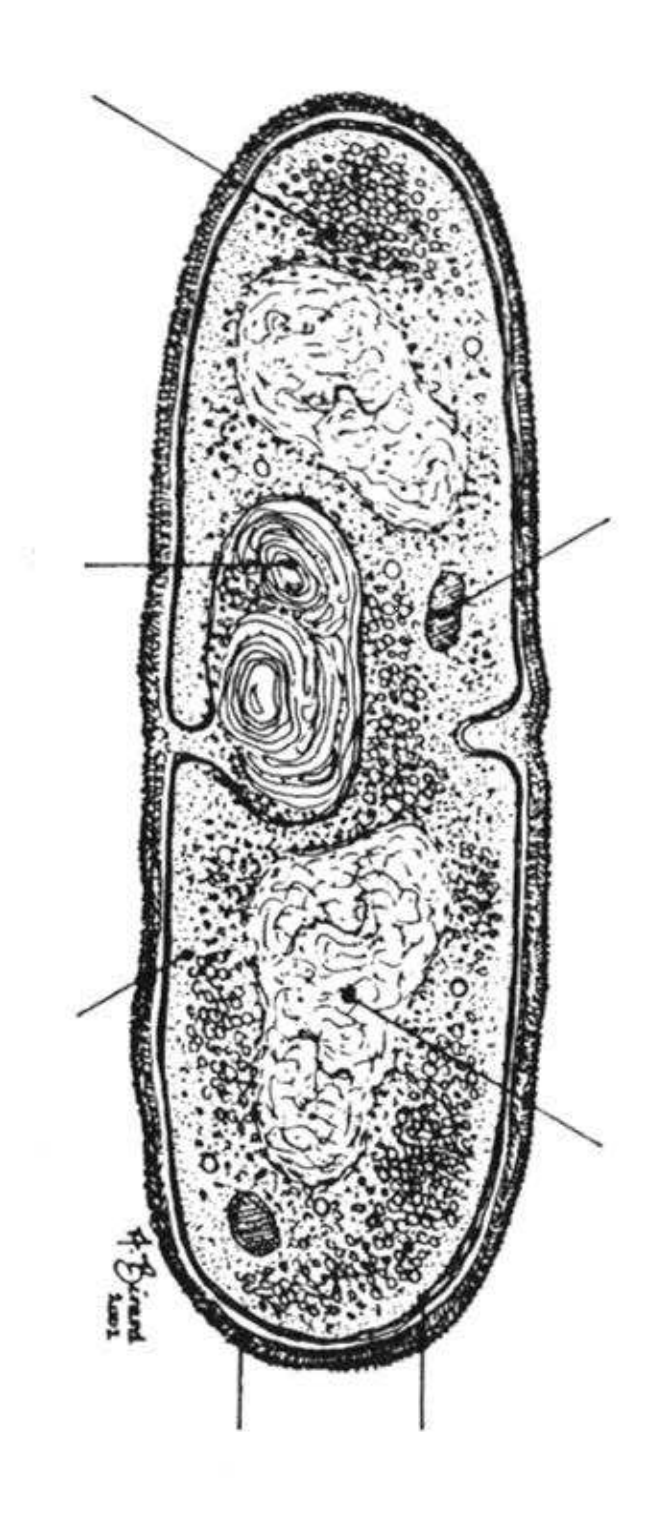


Les cellules procaryotes (pro = primitif; caryon = noyau): cellules sans vrai noyau c'est-à-dire que le matériel génétique n'est pas enfermé dans une enveloppe nucléaire.et sans organites à part des replis de la membrane plasmique dits mesosomes.

Les cellules eucaryotes (eu =vrai, caryon= noyau): le noyau est délimité par une enveloppe nucléaire. Des membranes internes délimitent des compartiments cytoplasmiques appelés organites.

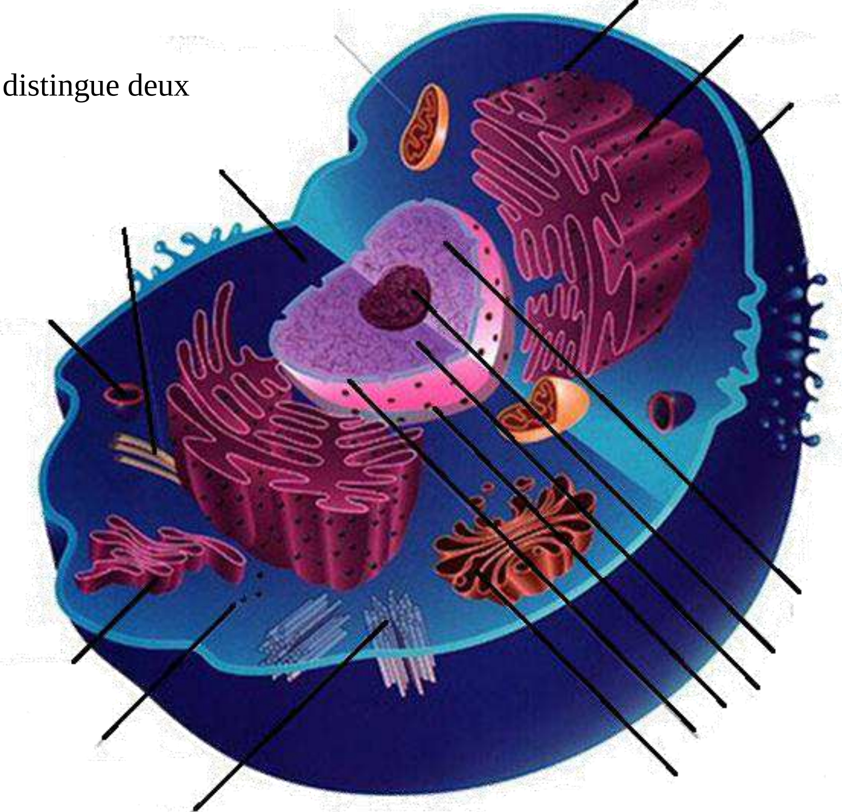


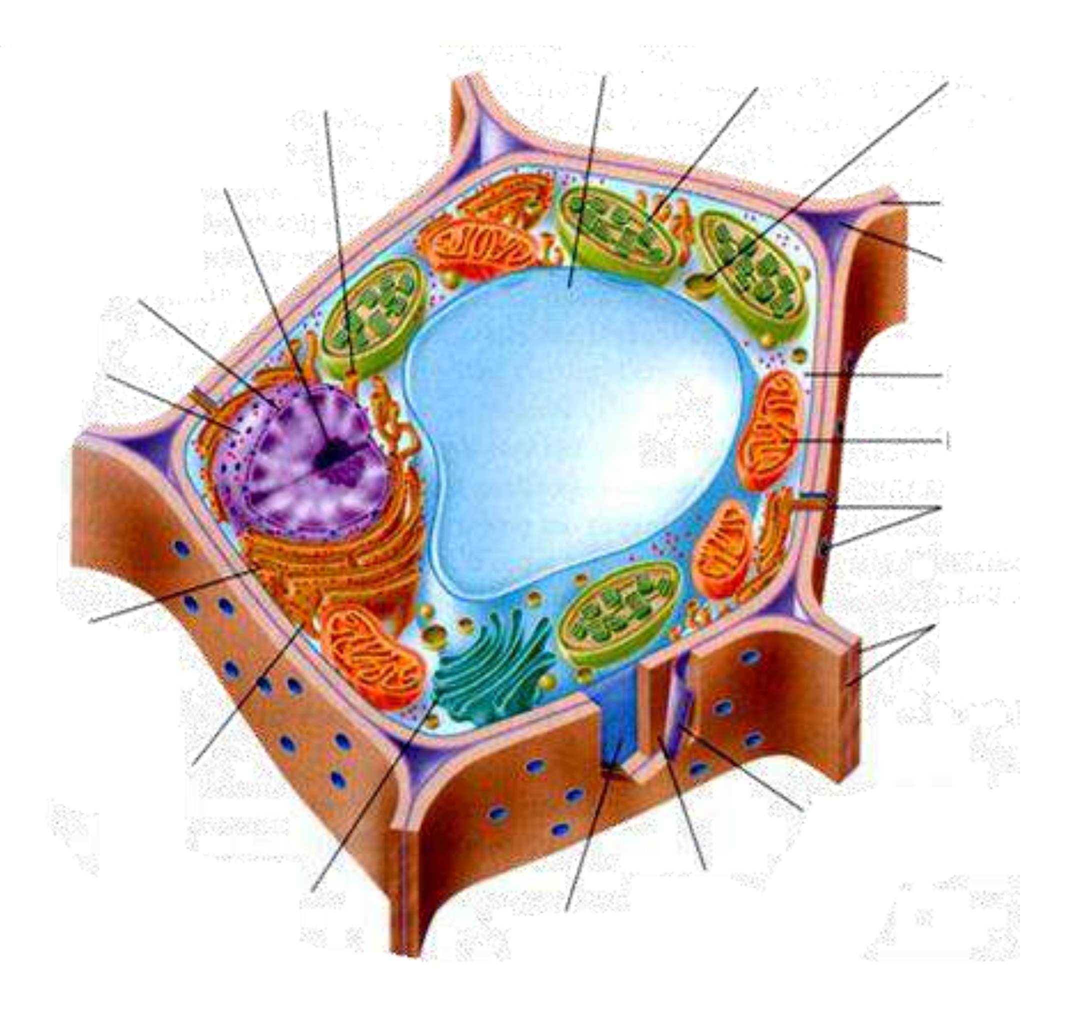
La figure suivante illustre la structure d'une cellule procaryote :



Parmi les cellules eucaryotes on distingue deux types de cellules:

- Les cellules animales
- Les cellules végétales

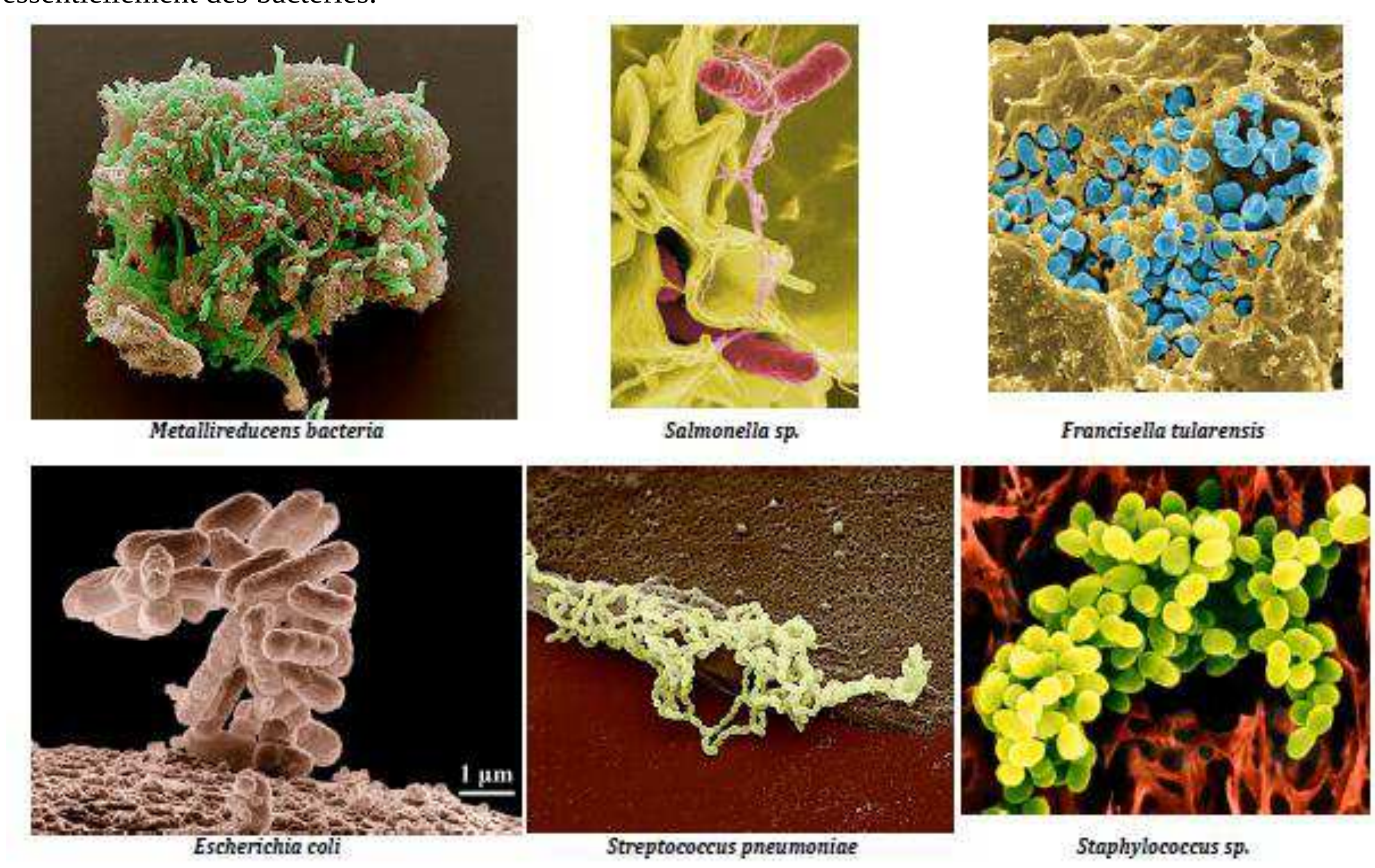




Les cellules animale et végétale sont entourées par une membrane plasmique et présentent, en grande partie les mêmes organites. Mais, La cellule végétale est caractérisée par:

- La présence d'une paroi squelettique
- La présence des plastes.
- Une vacuole de grande taille pouvant occuper la plus grande partie du volume cellulaire.

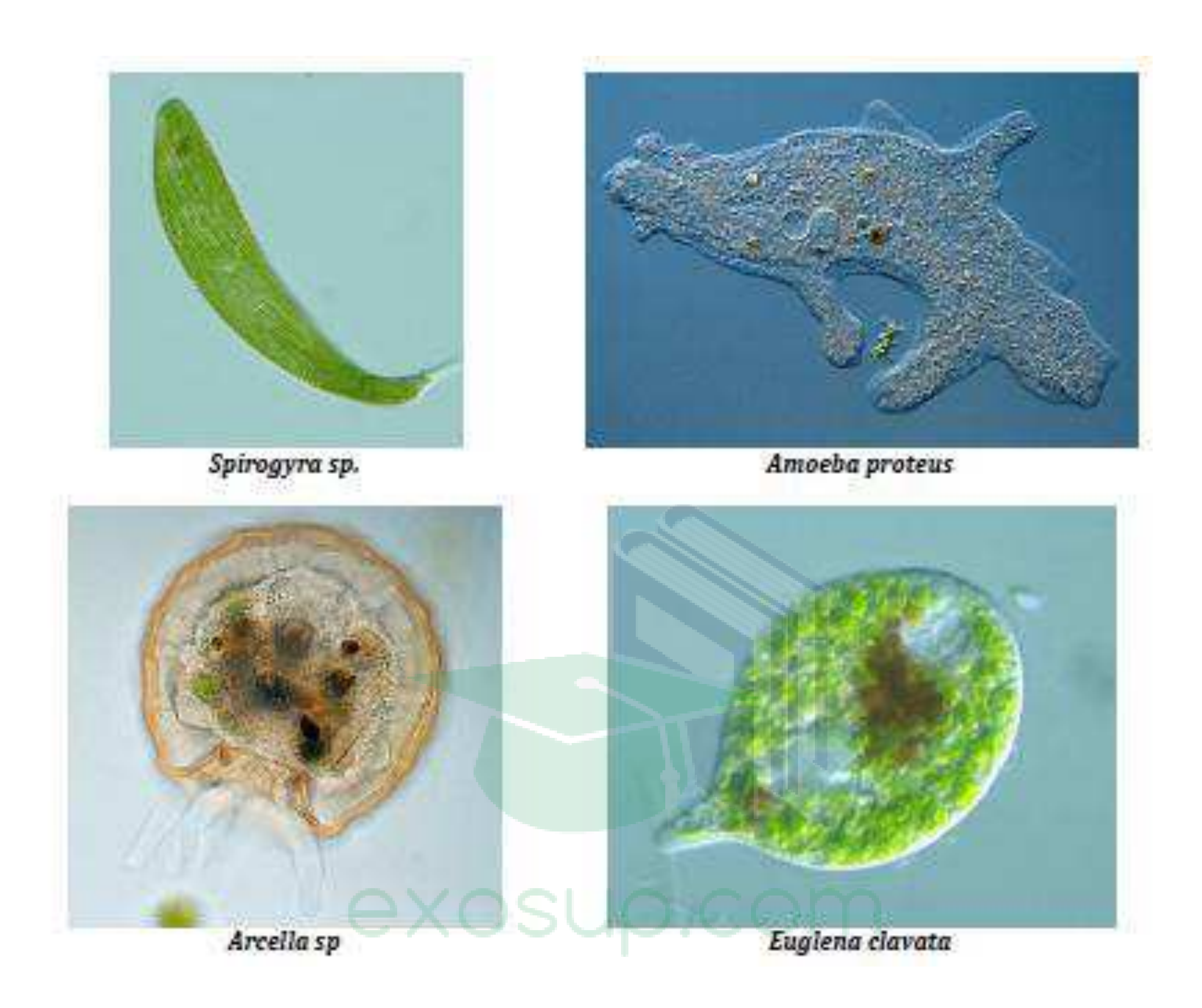
Les cellules procaryotes correspondent essentiellement à des organismes unicellulaires. Il s'agit essentiellement des bactéries.



Metallireducens bacteria — *Salmonella sp.* — *Francisella tularensis*

Escherichia coli — *Streptococcus pneumoniae* — *Staphylococcus sp.*

Les cellules eucaryotes peuvent constituer des organismes unicellulaires comme :

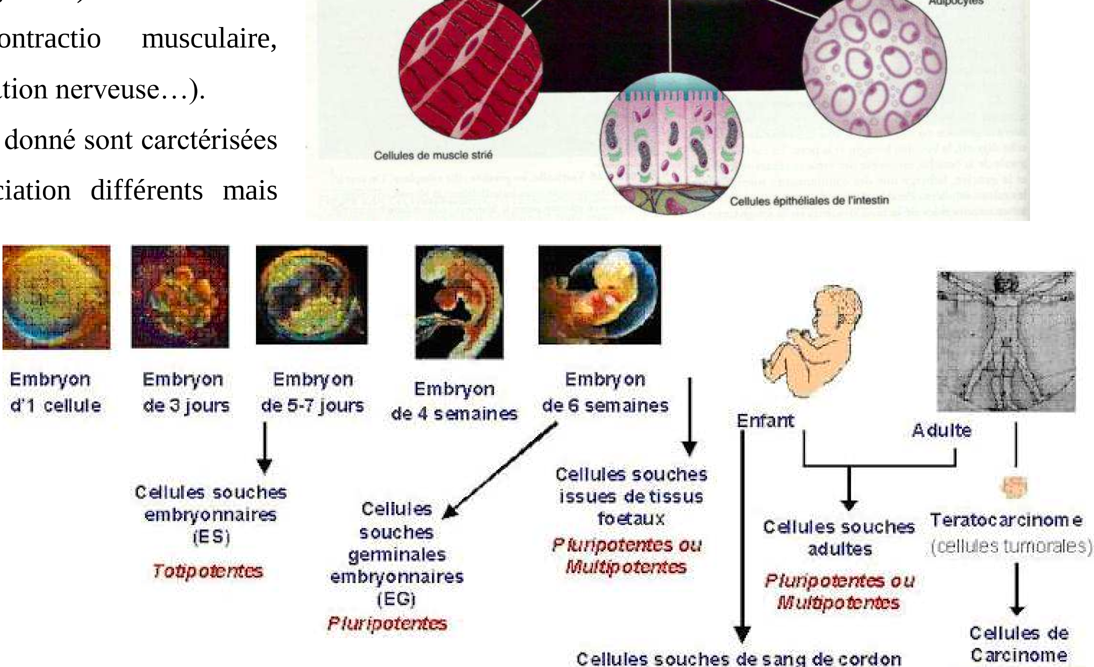


Les cellules eucaryotes constituent la quasi-totalité des organismes multicellulaires animaux et végétaux. Au sein de ces organismes, les cellules présentent une spécialisation structurale et fonctionnelle: elles sont dites **différenciées.**

La Différenciation cellulaire est le processus par lequel une cellule peu ou pas différenciée acquiert les caractéristiques d'un type cellulaire sur le plan morphologique et fonctionnel.

Les cellules différenciées :sont caractérisées par une structure cellulaire particulière (cellule épithéliale, musculaire, neurone..), une production spécifique (hormone, enzymes ; hémoglobine) et une fonction cellulaire spécifique (contractio musculaire, transport de gaz, communication nerveuse…).

Les cellules d'un organisme donné sont carctérisées par des états de différenciation différents mais possèdent le même le génome : c'est l'expression de gènes spécifiques qui explique la différence.



Une cellule capable de se différencier en:

- ➢ En tous les types cellulaires d'un organisme si elle est totipotente: (zygote et très jeunes cellules embryonnaires)
- ➢ En plusieurs types de cellules : cellules pluripotentes ou cellules souches
- ➢ Peut s'auto-renouveler
- ➢ Spécialisée : cellules souches hématopoïétiques, de l'épiderme …

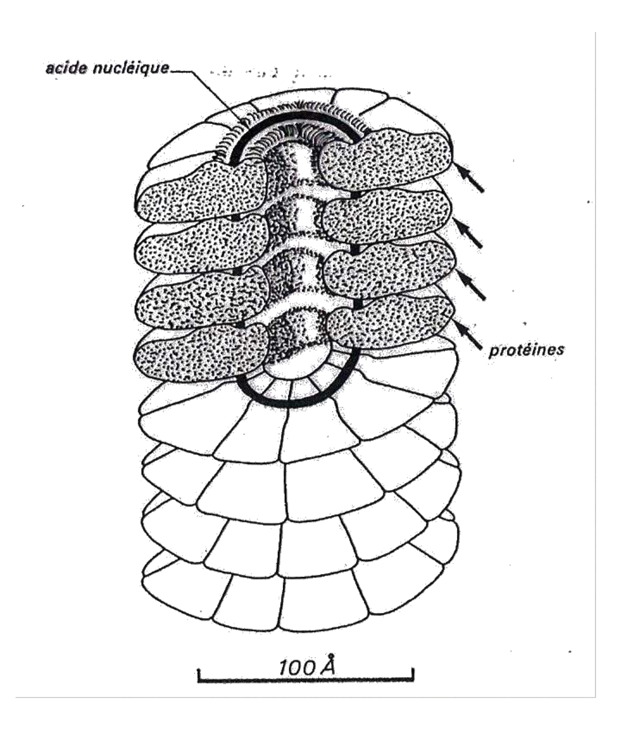
5. Cas des virus

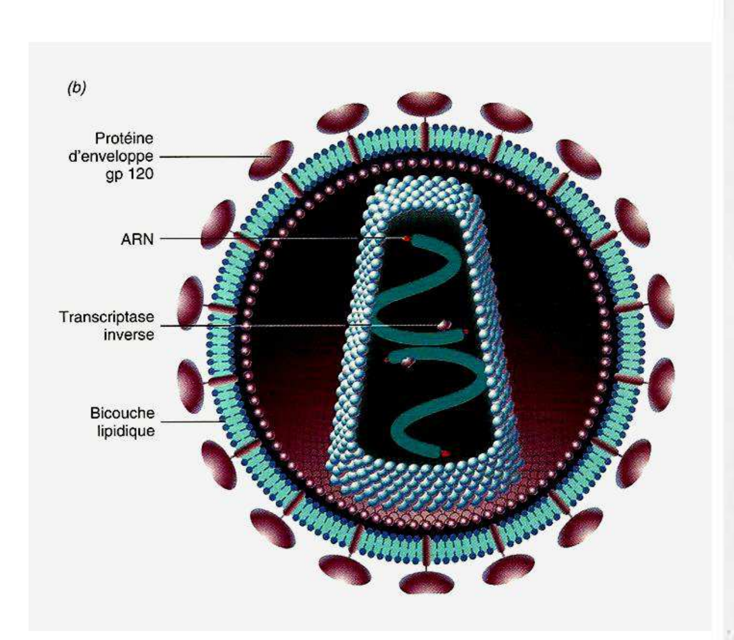
Les virus sont des structures vivantes constituées par un matériel génétique (ADN ou ARN) et par une coque protéique.

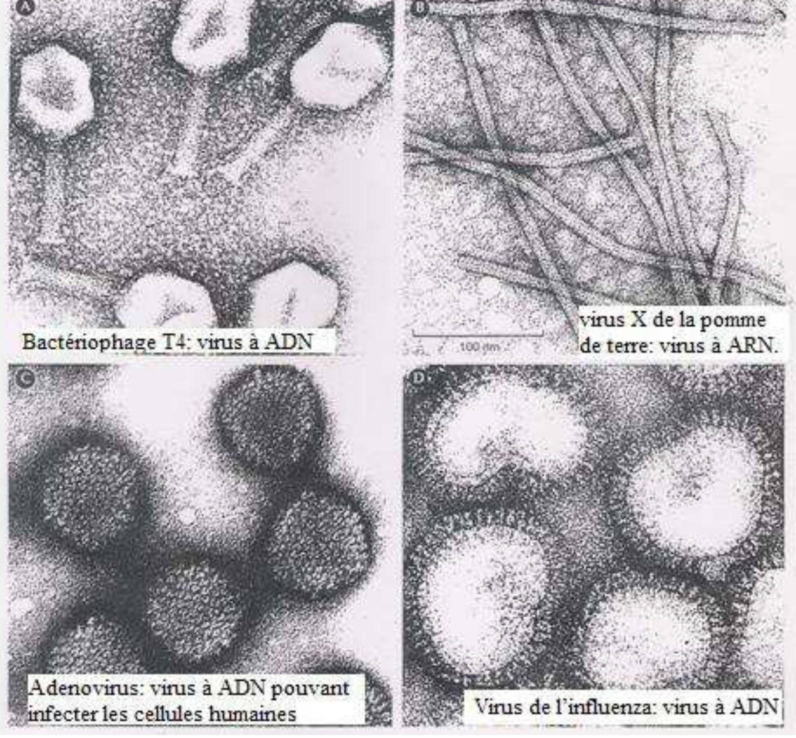
Les virus se caractérisent par:

- Absence des structures cellulaires essentielles comme la membrane plasmique, l'hyaloplasme ou les ribosomes.
- La nécessité de la « machinerie cellulaire » d'une cellule hôte pour se reproduire. Hors des cellules hôtes c'est un simple assemblage de macromolécules.

DONC ce ne sont pas des cellules: c'est un état dit acaryote







Chapitre 2

Composition chimique de la cellule

Les êtres vivants sont composés de trois types de matières qu'on peut découvrir successivement lorsqu'un échantillon vivant est exposé à la chaleur:

- De la vapeur d'eau se dégage en premier révélant la présence de l'eau. Sa teneur dépasse en général les 60 %.
- L'échantillon devient noir à cause de la combustion d'une matière riche en carbone: la matière organique.
- A la fin de la combustion, il persiste de cendres composées d'éléments minéraux.

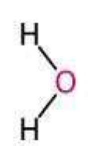
Ce tableau présente la composition moyenne des cellules vivantes

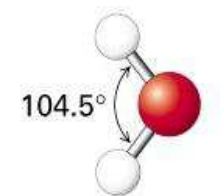
Composants	Pourcentage de la masse totale
Eau	70%
Protéines	18%
Lipides	5%
ADN	0,25%
ARN	1,1%
Polyosides	2%
Molécules simples (acides aminés, acides gras, glucose)	3%
Ions minéraux	1%

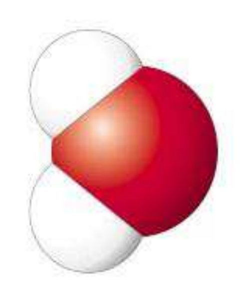
1. Eau

1.1. Structure de l'eau

C'est une petite molécule (PM = 18). Elle présente un atome d'oxygène lié par liaisons covalentes à deux atomes d'hydrogène. L'oxygène attire le nuage électronique et constitue une charge partielle négative alors que les hydrogènes présentent une charge





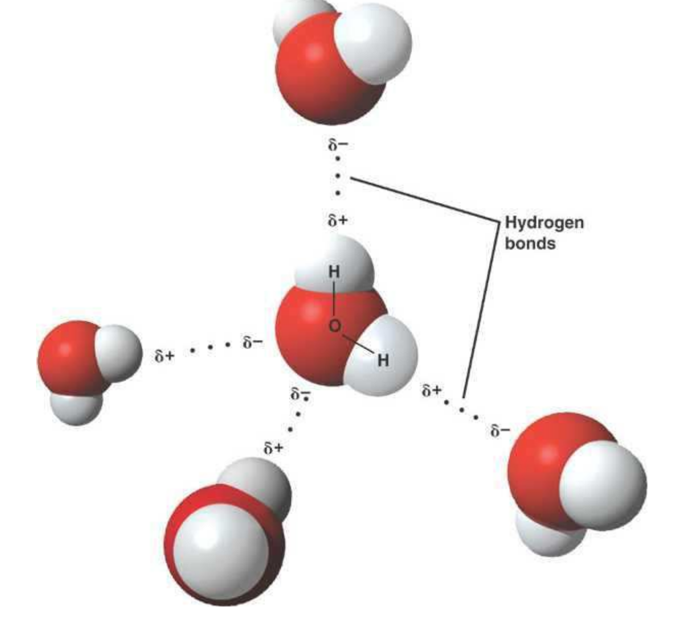


partielle positive: l'eau est une molécule polaire.

L'eau, par sa nature polaire, attire les autres molécules polaires et les ions (hydrophiles) et repousse les molécules apolaires (hydrophobes)

L'eau peut aussi se dissocier en H^+ et OH^-.L'équilibre est mesuré par le pH.

1.2. L'eau dans la cellule



L'eau est la molécule la plus abondante dans les cellules vivantes. Elle dépasse les 60 % de la matière vivante. Ses rôles les plus importants sont :

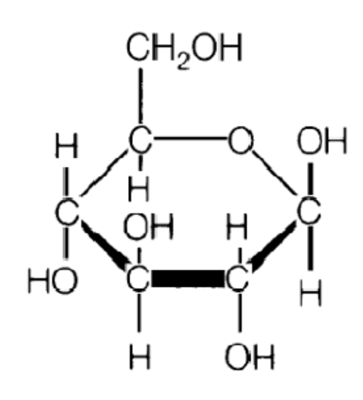
- C'est le solvant de beaucoup de substances cellulaires.
- C'est le milieu où se déroule la quasi-totalité des réactions biologiques.
- Il peut participer comme substrat (réactif) ou se libérer comme produit dans certaines réactions comme l'hydrolyse.
- Il contribue, par son interaction avec les molécules hydrophiles et/ou hydrophobes, à stabiliser beaucoup de structures cellulaires comme les membranes.

2. Les substances organiques

Ce sont des molécules dont l'atome principal est le carbone. La molécule la plus simple est le méthane qui comprend un atome de carbone associé à 4 atome d'hydrogène.

Il existe quatre types de molécules organiques:

- Les glucides
- Les lipides
- Les protéines
- Les acides nucléiques



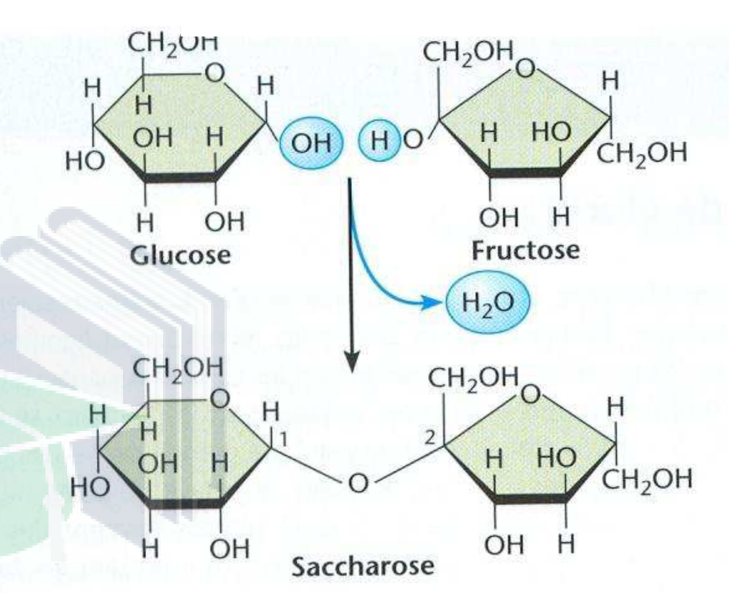
Glucose (forme cyclique)

2.1. Les glucides

Les glucides comprennent les sucres et leurs polymères. Les glucides comprennent le carbone, l'oxygène et l'hydrogène. Le nom des glucides se termine par ose.

On distingue :

- Les monosaccharides: ce sont les glucides les plus simples avec une formule chimique constituée d'un multiple de CH_2O. Le plus connu est le glucose.
- Les disaccharides: c'est l'association de deux monosaccharides. Le plus connu est le saccharose.
- Les polysaccharides: C'est l'association d'un grand nombre de monosaccharides pour former des polymères.



Exemple 1: l'amidon qui constitue la forme de réserve dans les graines (haricot) ou les tubercules.

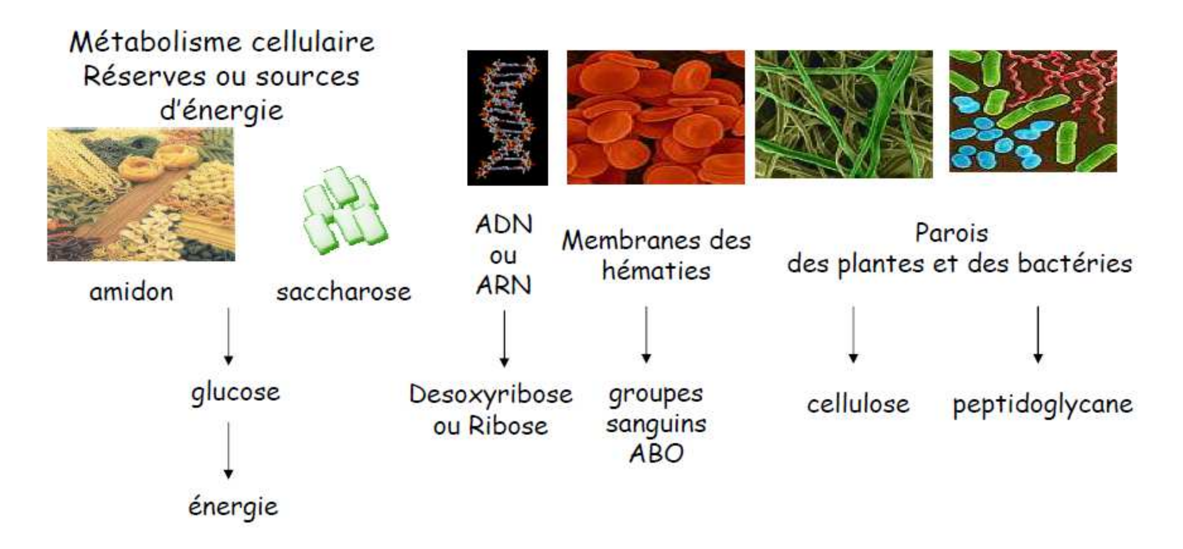
Exemple 2: la cellulose qui est le principal constituant de la paroi végétale

(b) L'amidon : liaisons 1-4 de glucose α

(c) La cellulose : liaisons 1-4 de glucose β

Les principaux rôles des glucides sont :

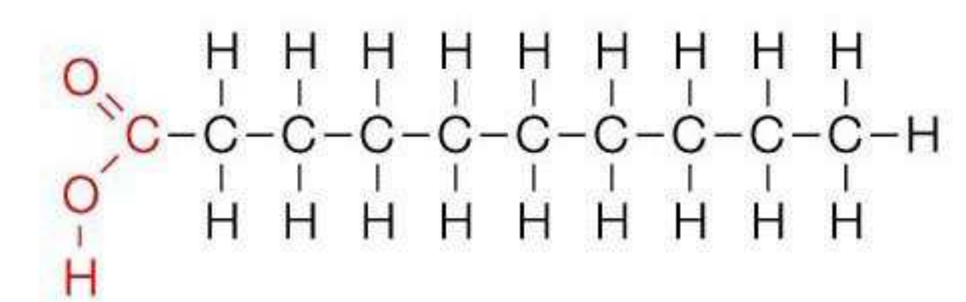
- Source d'énergie pour la cellule
- Entrent dans la composition des acides nucléiques
- Composent la paroi des cellules végétales et bactériennes
- Font partie de la membrane plasmique où ils jouent, entre autres, le rôle dans l'adhérence et la reconnaissance cellulaires



2.2. Les lipides

Ce sont des molécules hydrophobes ou amphiphiles(molécules hydrophobes possédant un domaine hydrophile) très diversifiées. Ils Comprennent entre autres les graisses, les cires, les stérols les vitamines liposolubles, les mono-, di- et triglycérides, ou encore les phospholipides.

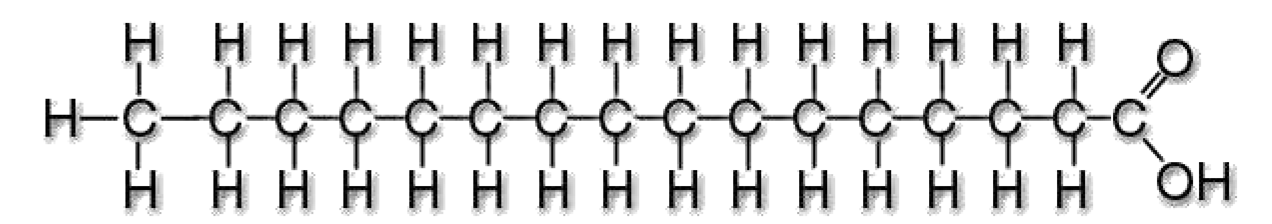
Dans le cadre de ce cours nous nous limiterons à l'étude des acides gras et leurs associations en triglycérides et en phospholipides



Les acides gras sont de longues chaînes carbonées à nombre pair de carbones et portant une fonction acide au niveau du carbone 1.

Ces acides gras peuvent être:

- Saturés s'ils ne comprennent que des simples liaisons.

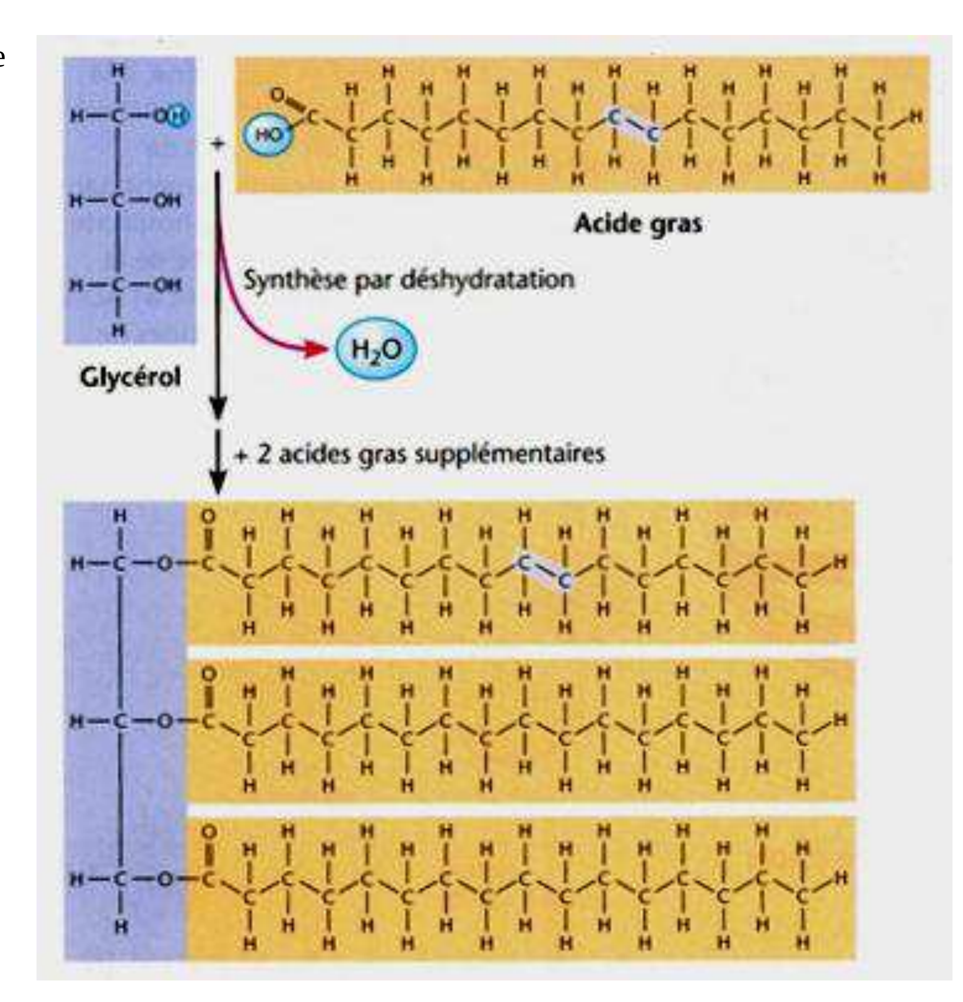


Acide gras saturé $CH_3(CH_2)_{14}COOH$

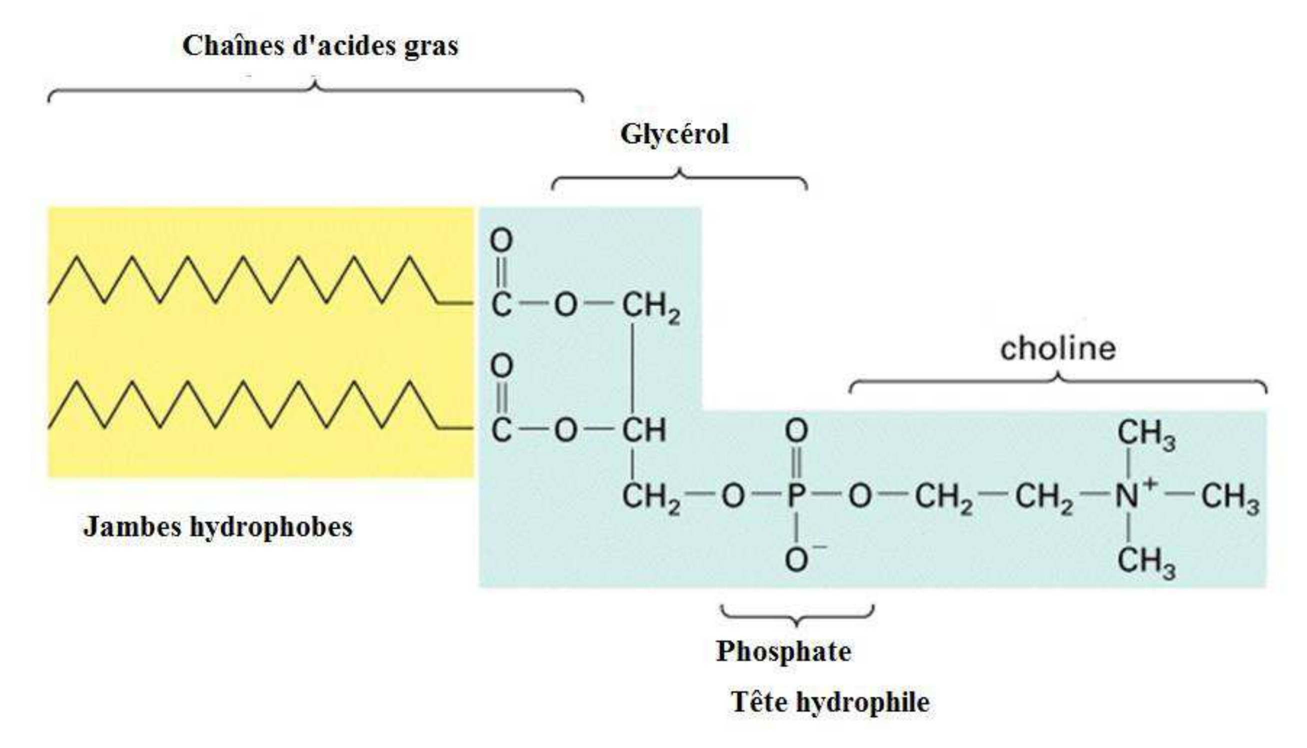
- Insaturés s'ils portent au moins une double ou triple liaison.

Acide gras insaturé $CH_3CH_2(CH{=}CHCH_2)_3(CH_2)_6COOH$

Les acides gras peuvent réagir avec une molécule de glycérol peuvent former soit un triglycéride.



L’association du glycérol avec deux acides gras et un groupement phosphate associé à un groupement hydrophile donne un lipide amphiphile: c’est un phospholipide.



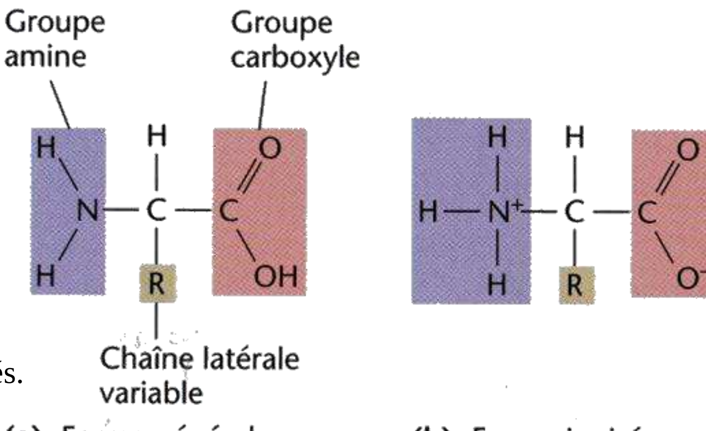
Les rôles des lipides sont multiples. On peut citer entre autres :

- Constitution de la bicouche lipidique des membranes.
- Source importante d’énergie pour la cellule
- Forme de réserves chez les végétaux (graines oléagineuses) et chez les animaux (tissus adipeux)
- Constitution des hormones lipophiles.

2.3. Les protéines

Les protéines sont des chaînes d’acides aminés reliés entre eux par des liaisons peptidiques CO-NH.

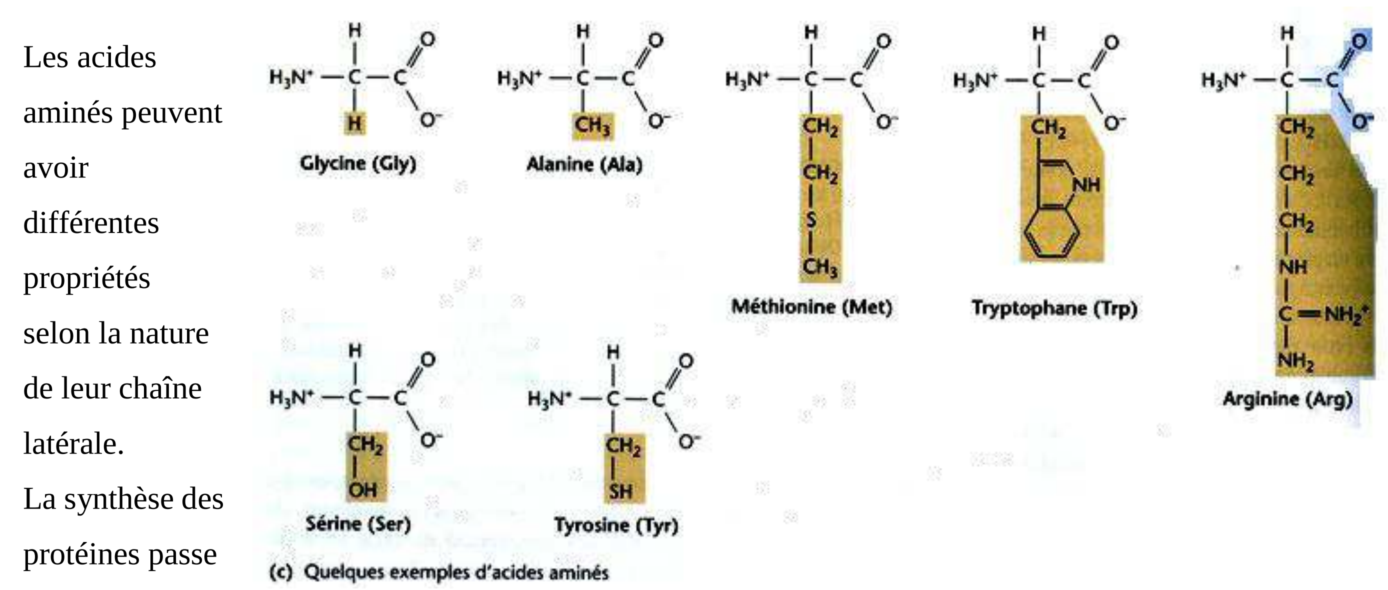
Un acide aminé est une molécule carbonée comprenant un groupe carboxyle (-COOH), un groupe amine (-NH2) et une chaîne latérale variable (-R) qui diffère entre les 20 acides aminés.



(a) Forme générale d’un acide aminé

(b) Forme ionisée d’un acide aminé

Les acides aminés peuvent avoir différentes propriétés selon la nature de leur chaîne latérale.



(c) Quelques exemples d'acides aminés

La synthèse des protéines passe par la formation d'une liaison covalente dite liaison peptidique entre les acides aminés pour former une chaîne linéaire d'acides aminés. La succession des acides aminés varie d'une protéine à l »autre. On parle de séquence primaire. Différentes interactions au sein des chaînes peptidiques donnent une structure secondaire, tertiaire puis quaternaire aboutissant à une structure tridimensionnelle particulière permettant la fonctionnalité de la protéine.

Les rôles des protéines sont très nombreux. On peut les classer en 2 catégories :

Lys – Gly – Arg – Cys

(a) **La structure primaire** est la séquence en acides aminés. Voici une partie de la structure primaire de la Rubisco, qui comprend environ 4 800 acides aminés.

Liaisons hydrogène

Feuillet plissé β

Hélice α

(b) **La structure secondaire** est due aux liaisons hydrogène entre les atomes du squelette polypeptidique. La Rubisco contient des hélices alpha (α) et des feuillets plissés bêta (β). Les groupes R ne sont pas représentés.

Petites sous-unités

Grandes sous-unités

(c) **La structure tertiaire** se forme grâce aux interactions chimiques entre les groupes R, telles que les ponts disulfure. La grande sous-unité de la Rubisco est représentée sous la forme d'un modèle en ruban.

(d) **La structure quaternaire** implique plus d'une chaîne polypeptidique. La Rubisco des plantes supérieures est composée de huit grandes sous-unités et de huit petites sous-unités.

- Protéines de structure: beaucoup de protéines participent à différentes structures cellulaires comme les membranes, le cytosquelette et d'autres.
- Protéines enzymatiques : les réactions de la cellule vivante sont catalysées par des protéines appelées enzymes.

2.4. Les acides nucléiques

Voir plus loin

3. Sels minéraux

Les sels minéraux sont les constituants qui restent (sous forme de cendres) après calcination des tissus organiques.

Chimiquement, ce sont des éléments ionisés chargés soit positivement (cations) ou négativement (anions).

Les sels minéraux sont essentiels à l'organisme, notamment parce qu'ils :

- contrôlent l'équilibre hydrique (pression osmotique)
- règlent l'équilibre acide-base (pH)
- font partie de certaines structures (os, dents)
- entrent dans la composition des enzymes, des hormones
- catalysent de nombreuses réactions du métabolisme

Selon les **quantités mises en jeu dans l'organisme, les sels minéraux sont couramment** divisés en 2 groupes:

- les éléments principaux ou **macroéléments: Ca, P, K, Cl, Na, Mg**
- les éléments traces ou **oligoéléments: Fe, Zn, Cu, Mn, I, Mo, etc.**

4. Comment les molécules constituent les cellules ?

Les molécules simples issues de l'environnement sont utilisées pour la synthèse de molécules organiques simples lors de processus comme la photosynthèse. Ces molécules sont polymérisées en molécules complexes puis en constructions supramoléculaires pour former des organites et des cellules.

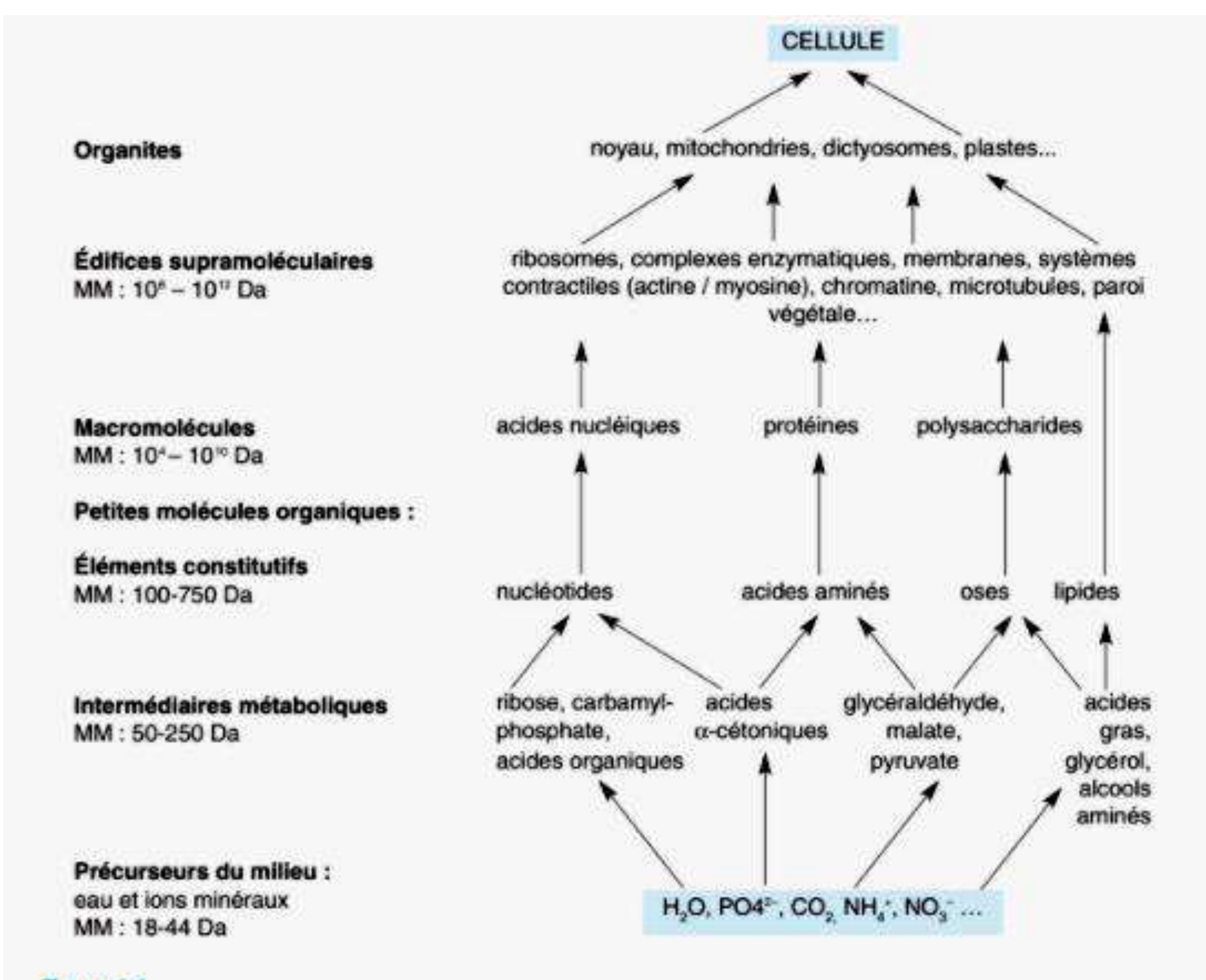


Figure 1.1

Hiérarchie de l'organisation des biomolécules au sein de la matière vivante, depuis les précurseurs minéraux du milieu, jusqu'aux organites et aux cellules

En raison de leur masse moléculaire relativement élevée, et surtout de leur participation directe à la constitution d'édifices supramoléculaires de grande taille (membranes), certains lipides structuraux doivent être mis à part, bien qu'ils ne soient pas des macromolécules.

Chapitre 3

Méthodes d'étude de la cellule

1. La microscopie

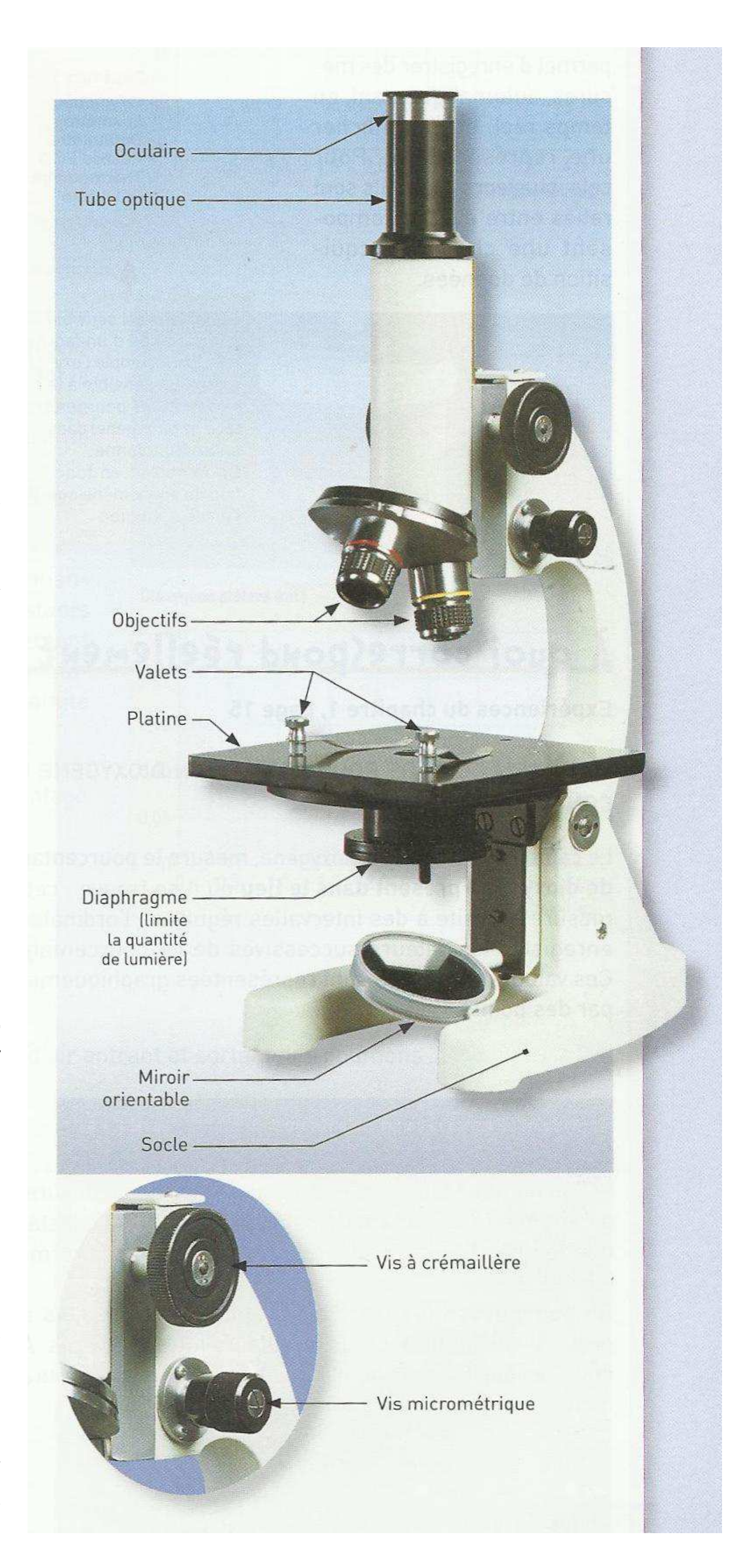
Le microscope à transmission (photonique ou électronique) permet d'observer. sur une coupe très fine les détails infiniment petits d'un objet (animal, plante, roche).

1.1. Le microscope optique

La figure ci-contre montre un microscope optique et ses différentes composantes. Il permet de visualiser des objets très fins, montés dans une goutte d'eau ou de liquide coloré sur une lame porte objet et recouvert d'une lamelle couvre objet très fragile, ou des coupesfixées et colorées selon un protocole qui sera présenté ultérieurement. La lumière qui traverse l'objet remonte dans les lentilles de verre (objectif et oculaire) ce qui agrandit l'objet.

L'observation au microscope passe par les étapes suivantes :

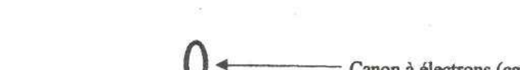
- **Préparation de l'observation:** la préparation à observer est placée sur la platine et centrée pour que la lumière traverse le tube optique donnant un rond lumineux dans l'oculaire.
- **La mise au point**: le petit objectif (faible grossissement) est placé dans l'axe du tube optique. Il faut ensuite regarder dans l'oculaire et, à l'aide de la vis macrométrique de mise au point, remonter le tube jusqu'à l'obtention d'une image nette.
- **Exploration de la préparation** : la préparation est déplacée délicatement jusqu'à trouver l'objet recherché.
- **Changement de grossissement**: il faut placer la zone à agrandir au centre de la

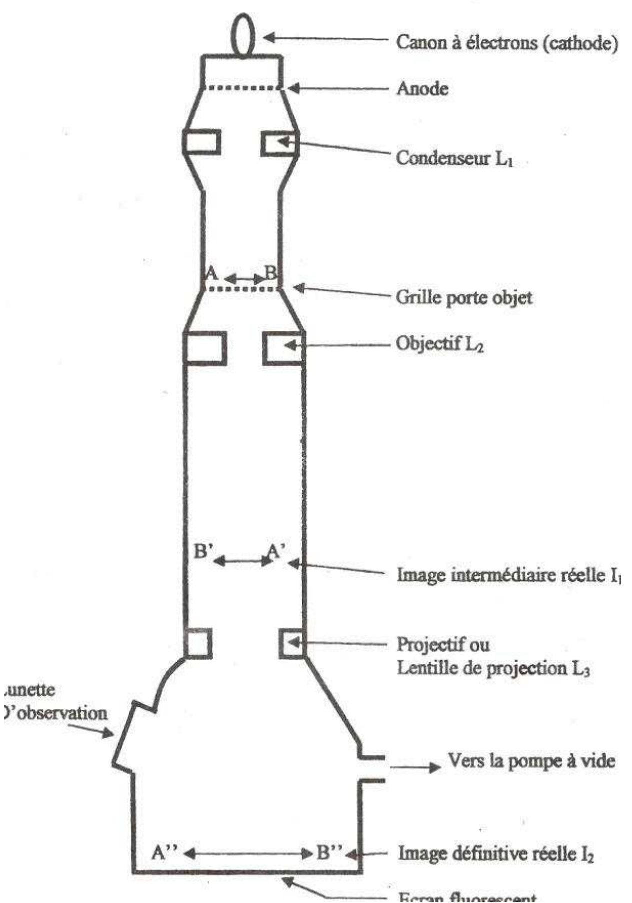


platine, puis changer d'objectif en tournant le barillet, sans toucher au réglage précédent. Le changement d'objectif se fait toujours du plus faible au plus fort grossissement. <u>La nouvelle mise au point se fait seulement par la petite vis.</u>

Que faire pour ne pas endommager les préparations ?

- ✓ Toujours commencer l'observation avec l'objectif le plus faible.
- ✓ N'utiliser la vis macrométrique (la grosse) qu'à faible grossissement.
- ✓ Fixer la lame avec les valets : si l'un d'eux est manquant, ne pas incliner le microscope!
- ✓ Ne jamais descendre le tube sans surveiller la platine et la lame en regardant sur le côté.
- ✓ Aux grossissements supérieurs, n'utiliser que la vis micrométrique.
- ✓ Si la vis semble bloquée, il faut s'assurer que l'objectif n'appuie pas sur la lame.





1.2. Microscope électronique à transmission

1.2.1. Principe du fonctionnement

Il est comparable à celui du microscope photonique. La source S est une cathode qui émet des électrons (au lieu des photons) qui sont accélérés par l'application d'une différence de potentiel entre la cathode et l'anode (60 à 100 Kv). Le vide poussé à l'intérieur du ME est nécessaire au déplacement des électrons. Les électrons traversent 3 lentilles électromagnétiques L1, L2, L3 et l'objet AB.

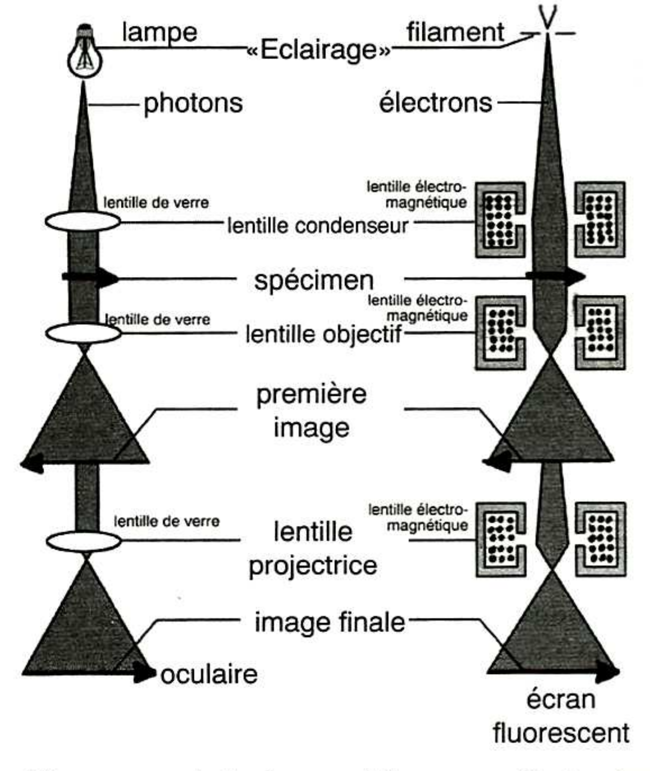
- L1 : le condensateur permet de focaliser le flux d'électrons sur l'objet.
- L2 et L3 jouent le rôle d'objectif et permettent l'agrandissement de l'objet AB.

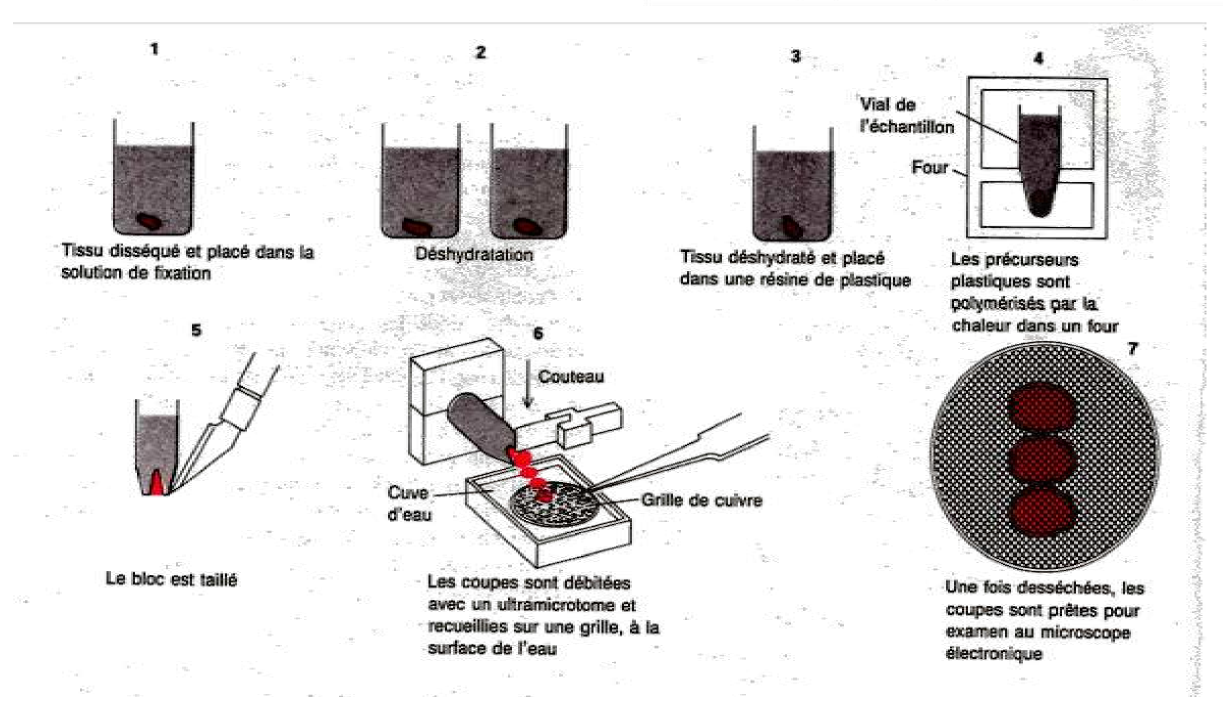
L'image est observée directement sur l'écran rendu fluorescent par le bombardement électronique ou sur une plaque photographique. Le MET permet des grossissements allant de 2000 à un million.

1.2.2. Préparation des coupes cellulaires ultrafines

Les cellules doivent être coupées en tranches très fines (50 à 100 nm) pour permettre aux électrons de les traverser, pour cela :

- Les cellules sont tuées par des fixateurs (glutaraldéhyde, tétroxyde d'osmium) qui préservent les structures cellulaires.
- Les échantillons fixés sont lavés dans l'eau, puis déshydratés par des solvants organiques (acétone).
- Les échantillons sont inclus dans une résine (araldite).
- Les blocs de résine renfermant l'échantillon sont coupés à l'aide d'un ultra microtome muni d'un couteau de verre ou de diamant.
- Les coupes cellulaires sont recueillies sur une grille en cuivre. La grille est trempée dans une solution de métaux lourds (uranium, plomb) pour noircir les structures cellulaires et augmenter le contraste. La grille est ensuite introduite dans le MET pour l'observation.





1.3. .Comparaison entre microscope électronique à transmission et microscope photonique

La figure ci-contre montre que les deux fonctionnent selon les mêmes principes. Les différences résident dans la nature de la source (lampe ou cathode), la nature des lentilles (en verre ou électromagnétiques) et en fin le mode d'observation : l'œil pour le microscope photonique et l'écran ou le cliché pour le microscope électronique.

	Microscope électronique	Microscope photonique
Source d'énergie	électrons	**Photons**
Couleur	Noir et blanc	**Couleur (Lugol, rouge neutre)**
Etat des cellules	Cellules mortes car fixées	**Vivantes ou mortes.**
Grossissement	2000 à 1000000	**25 à 1000**
Pouvoir séparateur	4 Å	**0.2 µm**
Lentilles	Magnétiques	**En verre**
Image reçue	Sur écran fluorescent	**Par l'œil**
Préparations coupées	**A l'ultramicrotome**	**Au microtome**

1.4. Autres microscopes

1.4.1. Microscope électronique à balayage

C'est le microscope d'observation des surfaces et permet d'obtenir une image en relief de la surface de l'échantillon. La surface cellulaire est recouverte par une mince couche d'or, de platine ou de palladium pour empêcher la traversée des électrons. Un faisceau d'électrons balaye la surface ce qui provoque une émission d'électrons qui sont captés par l'écran. L'angle d'impact du faisceau d'électrons avec la surface cellulaire varie. L'image ainsi reconstituée est tridimensionnelle.

1.4.2. Microscope à épifluorescence

Cet appareil permet d'analyser la lumière réémise par fluorescence par un échantillon éclairé par une lumière d'une longueur d'onde donnée. Il est très utile pour analyser aussi bien des substances fluorescentes naturellement (comme la chlorophylle) que des substances fluorescentes fixées artificiellement sur des molécules comme marqueurs.

2. Méthodes d'analyse des constituants cellulaires

De manière générale, ces méthodes d'analyse ont un double objectif :

- Etablir un catalogue des molécules constituant un échantillon biologique donné, indépendamment de leur fonction
- Repérer dans une fraction, ou localiser dans une structure, une seule espèce moléculaire connue, déjà identifiée, dans le cadre d'une approche plus ciblée, fonctionnelle/

2.1. Fractionnement chimique

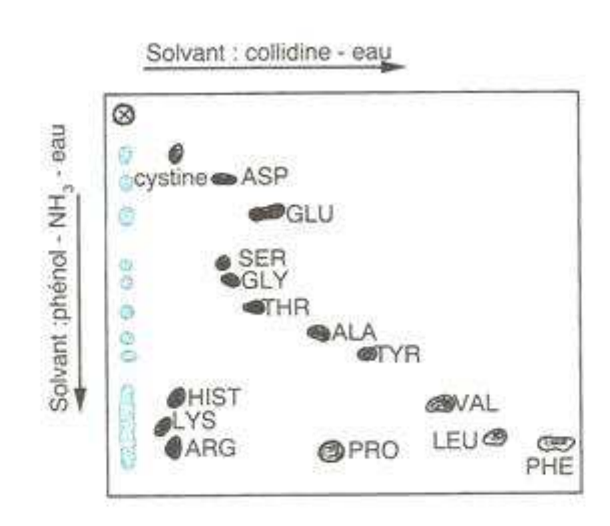
C'est un ensemble de techniques qui consistent à séparer les petites molécules (organiques ou minérales) des macromolécules.

Lorsqu'un extrait biologique brut, tel qu'un homogénat, est traité par un acide fort à froid, les macromolécules (en particulier, les protéines) sont dénaturées et forment des précipités faciles à sédimenter par centrifugation. Le surnageant contient tous les précurseurs organiques solubles dans l'acide : acides aminés, glucides, nucléotides, produits de dégradation..., ainsi que les ions minéraux.

La méthode de tamisage moléculaire, relativement récente et plus résolutive, permet de séparer aisément les macromolécules natives en solution des composés de faible masse moléculaire (sels minéraux ou précurseurs organiques), par «filtration sur gel». Cette technique consiste en une «chromatographie» sur colonne utilisant un gel poreux formé de microbilles de nature polysaccharidique ; **il** s'agit d'une filtration par exclusion car les plus grosses molécules sont éluées les premières et donc séparées des autres.

2.2. Méthodes de séparation: chromatographie et électrophorèse

La **chromatographie** est une méthode séparative qui permet l'identification et le dosage des différents composés d'un mélange. Le principe est basé sur les propriétés de solubilité différentielle des composés dans des solvants ou des mélanges de solvants **variés**. Chaque espèce chimique se déplace à une vitesse propre dépendant de ses caractéristiques et de celles des deux phases mobile et/ou stationnaire. La chromatographie permet donc de séparer les constituants d'un mélange homogène.
Il existe différents types de chromatographies suivant la méthode de séparation utilisée: d'adsorption, de partage, d'échange d'ions, d'exclusion.

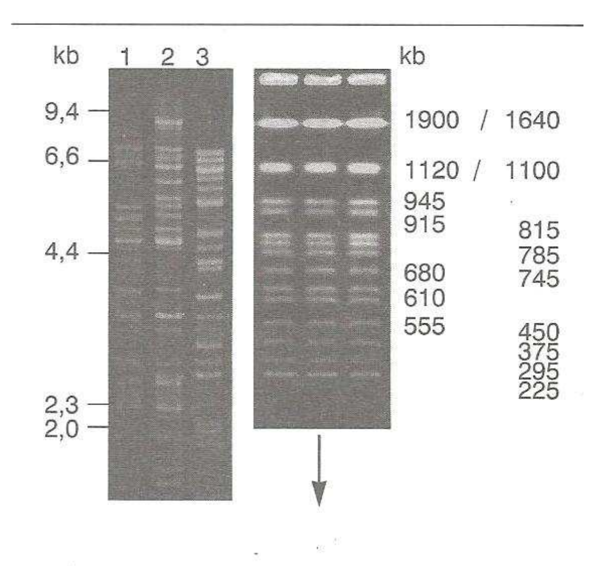


Chromatographie de partage bidimensionnelle

La chromatographie sur couche mince (CCM), par exemple, est une technique physique de séparation d'espèces chimiques. Pour cela on utilise un éluant: solvant qui monte par capillarité le long du support entraînant ainsi les différentes espèces chimiques.

Dans certains cas, le partage se fait plus facilement par chromatographie de partage bidimensionnelle : une première chromatographie dans un premier système de solvants est suivie par une deuxième migration dans un système de solvants différent effectuée sur la plaque préalablement séchée et tournée de 90°. les constituants du mélange sont répartis sur toute la surface de la plaque et donc mieux séparés qu'après une migration monodimensionnelle.

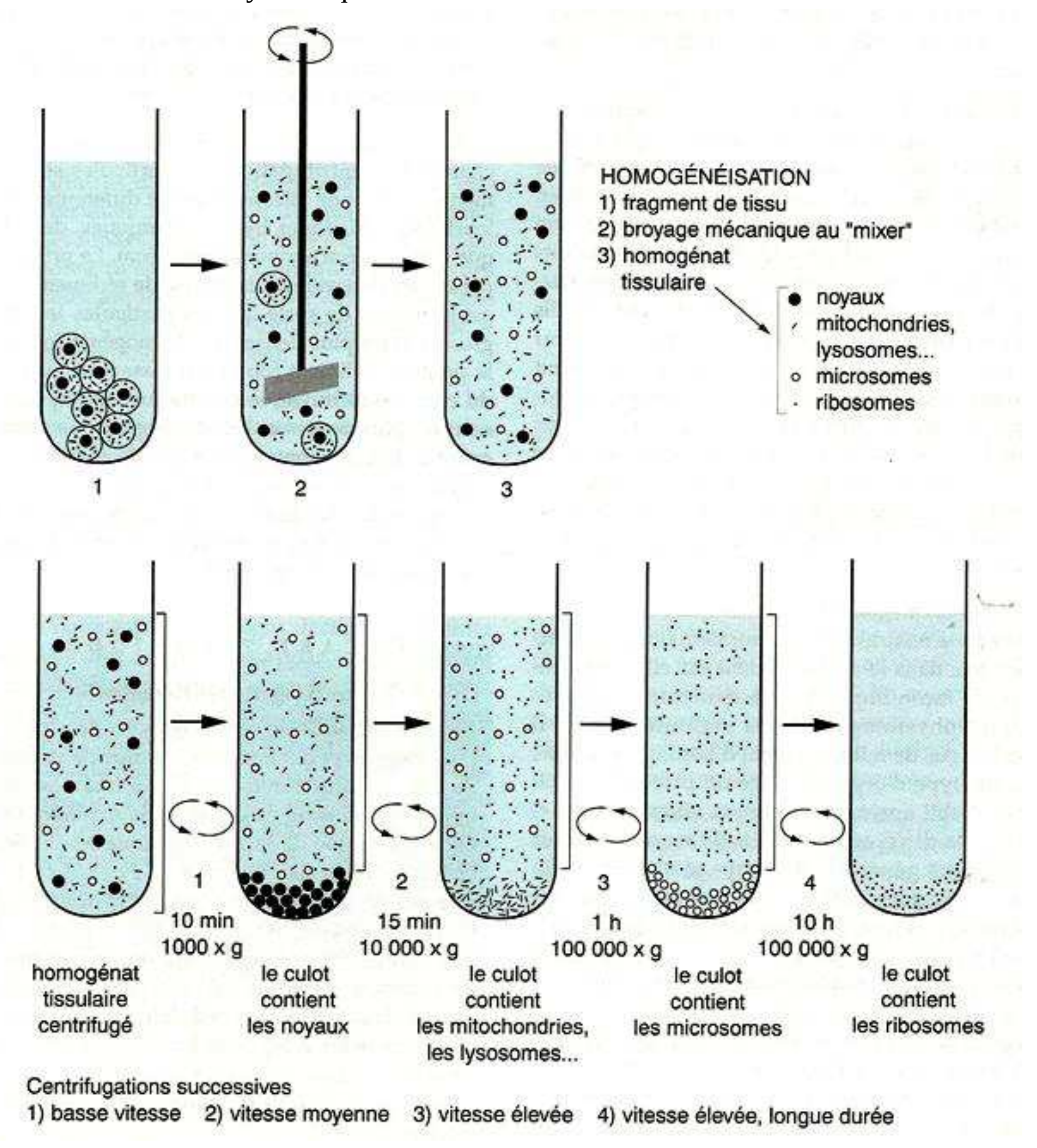
L'électrophorèse est basée sur les différences de charge électrique. Elles permettent aisément de séparer les sucres simples, les acides aminés, les acides organiques et les acides gras, les nucléotides... C'est aussi une méthode intéressante pour séparer, en présence d'un champ électrique, les centaines ou les milliers d'espèces moléculaires de protéines et d'acides nucléiques constituant les mélanges naturellement rencontrés dans les cellules.



Électrophorèses monodimensionnelles d'acides nucléiques sur gels de polyacrylamide

3. Séparation de différents organites : le fractionnement cellulaire

C'est une technique qui permet d'isoler les organites cellulaires tout en conservant intactes leur structure et leurs propriétés physiologiques. Les organites cellulaires obtenus par cette technique sont vivants et fonctionnels. On peut faire une analyse chimique pour étudier leur composition et étudier leur fonction in vitro dans un milieu synthétique.



Cette technique comporte 3 étapes :

◆ **Broyage (homogénéisation) :** le tissu cellulaire est broyé dans les conditions suivantes :

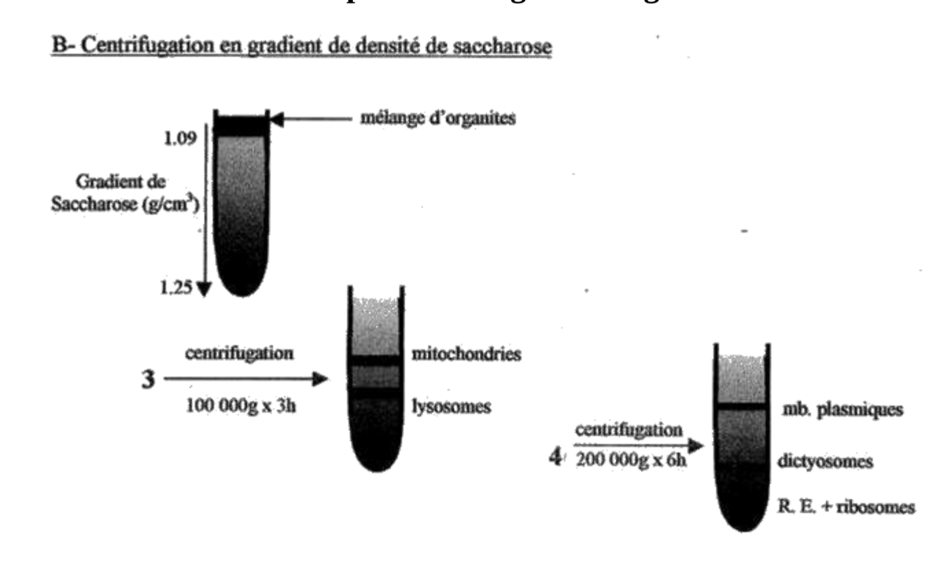
- Dans une solution de saccharose isotonique par rapport au milieu intracellulaire pour éviter les échanges d'eau.
- Dans une solution à pH constant pour éviter les échanges de protons.
- A 0°c pour annuler l'activité enzymatique.

On obtient une suspension ou homogénat où sont dispersés les organites cellulaires vivants.

◆ **Centrifugation différentielle : l**'homogénat est soumis à une première centrifugation brève et à faible vitesse. Celle-ci fait sédimenter les organites les plus lourds (noyaux) qui se

séparent d'un liquide appelé surnageant contenant les particules les plus légères. Le surnageant est centrifugé à nouveau plus longtemps avec une vitesse plus élevée etc.… Le dernier surnageant est le hyaloplasme, il contient des protéines (des enzymes libérés par le broyage), des acides aminés mais pas d'organites.

◆ **Purification des constituants cellulaires par centrifugation en gradient de densité :**



la centrifugation en gradient de densité permet la séparation complète des organites. Pour cela, on introduit dans le tube des solutions de saccharose dont la concentration molaire augmente du haut vers le bas (gradient), on étale en une fine couche la fraction à purifier sur la dernière solution de saccharose puis on centrifuge. Selon leur densité, les organites migrent dans le tube et se stabilisent dans des zones de saccharose de densité identique à celle du constituant cellulaire. Les organites isolés sont récupérés.

4. La culture cellulaire

La culture cellulaire est un ensemble de techniques de biologie utilisées pour faire croître des cellules hors de leur organisme (ex-vivo) ou de leur milieu d'origine, dans un but d'expérimentation scientifique ou de fécondation in vitro.

Les microorganismes procaryotes (Bactéries, Cyanobactéries...) ou eucaryotes unicellulaires (Protistes : Amoeba, Paramecium, Tetrahymena..., Algues : Chlamydomonas, Chlorella, Micrasterias... ou Champignons : levure de bière...) se cultivent aisément, dans des milieux synthétiques spécifiques parfaitement contrôlés et dans des conditions généralement simples. Ces milieux sont liquides ou solides, après gélification au moyen de composés inertes tels que l'agar-agar.

La culture in vitro de cellules d'organismes supérieurs, animaux ou végétaux, pose davantage de problèmes dans la mesure où, contrairement aux précédentes, ces cellules sont normalement intégrées au sein d'un organisme et donc le plus souvent tributaires, pour leur croissance, d'interactions avec d'autres cellule.

Dans cette partie, nous allons développer la culture des cellules animales. Les autres types de cultures seront développés dans d'autres modules.

4.1. Source des cellules

Il s'agit de différentes catégories de cellules : cellules normales, cellules transformées, cellules tumorales… Le choix dépend de l'objectif de la culture.

4.2. Milieux de culture

Les cellules doivent être placées dans des milieux de culture qui permettent de les nourrir et leur assurer de bonnes conditions de survie. En même temps, le milieu comprend des substances qui stimulent la multiplication et le développement des cellules.

- Exigences cellulaires minimales apportés par des base communes (milieux Hanks, Earl, PBS, Gey)
  - **eau**
  - **ions minéraux** donnant une osmolarité identique à celle du sérum physiologique
  - **source de carbone et d'énergie** (glucose par exemple)
  - **source d'azote** : acides aminés
  - **source d'acides gras**
  - **pH** constant 7,4 (indicateur de pH : rouge de phénol) grâce un système tampon CO_2/HCO_3^- ou phosphates.
- Compléments variables selon les milieux (RPMI, MEM, DMEM…) : acides aminés, vitamines, cofacteurs, bases azotées, ribose et désoxyribose.
- facteurs de croissance cellulaire (apportés parfois par le serum de bœuf fœtal)
  - **EGF (facteur de croissance épidermique),**
  - **FGF (facteur de croissance fibroblastique)**
  - **PDGF (facteur de croissance dérivé des plaquettes)**
  - **Facteurs de différenciation comme fibronectine (ancrage des cellules).**
  - **Inhibiteurs comme l'alpha1 antitrypsine (neutralisation de l'action enzymatique de la trypsine).**

4.3. Conditions de mise en culture

La culture est très sensible aux contaminations. La culture des cellules doit se faire dans des conditions garantissant l'absence de toute forme de contamination par d'autres cellules comme les microorganismes. C'est ce qu'on appelle conditions de stérilité ou d'asepsie. Un ensemble de précautions sont ainsi prises à toutes les étapes de la culture.



Le matériel et les milieux utilisés pour la culture sont stérilisés par :

- L'utilisation de l'autoclave à la température de 121°C et une pression de 1 Kba.
- Certains milieux fragiles sont passés dans des filtres millipores.
- Certains récipients en plastique sont garantis stériles par le fabricant.
- Certains milieux comprennent des antibiotiques.

La culture de cellules impose l'utilisation de la hotte à flux laminaire ou poste de sécurité microbiologique afin d'éviter la contamination pendant le travail d'ensemencement et/ou de repiquage.

Le PSM est une enceinte qui permet de travailler stérilement SANS FLAMME. L'air y est constamment filtré par des filtres absolus. Le mouvement de l'air, assuré par un puissant ventilateur, permet d'établir un flux laminaire d'air stérile sur le plan de travail. La protection de l'opérateur est assurée par une vitre à l'avant de l'enceinte: il pourra ainsi éviter sa contamination par les virus manipulés ou par les cellules dont les acides nucléiques pourraient éventuellement lui être transmis.

Le PSM est aussi utilisé dans la culture des tissus végétaux et dans des installations industrielles, pour la fabrication de composants électroniques et des disques cédérom ou DVD.



Au sein de la hotte, des précautions supplémentaires doivent être prises :

- Une petite flamme ou un système de stérilisation thermique permet de stériliser les instruments comme les pinces les ciseaux …
- Le pipetage doit se faire soit par le système Pipet aid , soit par les systèmes à cônes stériles.

4.4. Conditions d'incubation des cultures

La fragilité des cultures cellulaires impose le contrôle strict des conditions de l'environnement. Ainsi, en général, les récipients sont placés dans les conditions suivantes :

- 37°C
- 84% d'humidité
- 5% de CO_2, le CO_2 formant système tampon avec HCO_3- du milieu et permettant ainsi un maintien du pH de la culture à 7,2-7,3 (ce qui est attesté par le rouge de phénol).

Ces conditions sont assurées par un incubateur CO_2 (étuve à CO_2). Cet incubateur présente les avantages suivants :

- température contrôlée comme pour un étuvage classique
- hygrométrie contrôlée
- CO_2 contrôlée

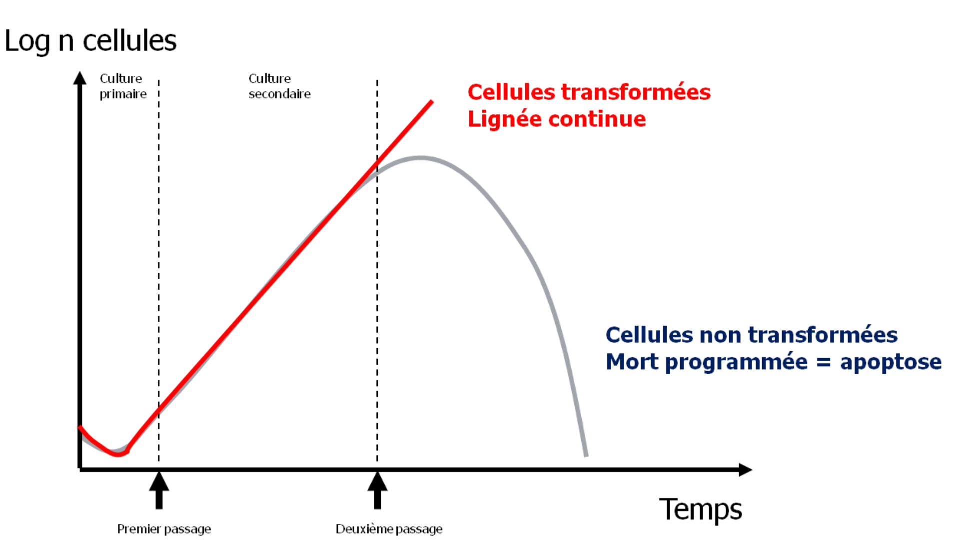
4.5. Différents types de cultures

On distingue :

- des cultures primaires issues de la multiplication de cellules (souvent de nature embryonnaire) prélevées directement dans les organismes, après que leurs tissus aient été dissociés par des enzymes appropriées (protéases). La multiplication de ces cellules s »arrête lorsque la surface du milieu est couverte : c'est l'inhibition de contact.
- des cultures secondaires, qui résultent du repiquage de cellules issues de cultures primaires, après dilution et ensemencement dans du milieu nutritif neuf. Ces cultures sont à terme condamnées à mourir,

comme celles de l'organisme de départ, après environ 50 à 100 divisions: on parle de souches cellulaires ;

➢ des lignées cellulaires ou cellules immortelles ayant perdu l'inhibition de contact et peuvent se multiplier indéfiniment suite à des mutations spontanées (ponctuelles ou réarrangements chromosomiques) ou grâce à des agents chimiques ou physiques mutagènes, par des Virus ou bien par des manipulations génétiques (transfection d'ADN purifié).



➢ Parmi les lignées cellulaires immortalisées, on distingue enfin des lignées dites transformées, qui induisent des tumeurs si on injecte leurs cellules à des animaux sains.

4.6. Intérêt des cellules en culture

L'examen des cellules en culture a apporté une contribution considérable à la connaissance du fonctionnement de la cellule. Ces techniques permettent en effet:

✓ Dans les recherches fondamentales pour l'étude des phénomènes de différenciation, de dédifférenciation, les mécanismes du cycle cellulaire…

✓ dans l'industrie pour des études de toxicologie (notamment en raison des problèmes d'expérimentation animale, expérimentation animale qui ne peut malgré tout pas être supprimée car les effets sur l'animal entier ne sont pas les mêmes que sur des cellules isolées),

✓ Dans le domaine de la santé pour les études chromosomiques (caryotype fœtal), la production de peau neuve par culture pour autogreffe ultérieure (pour les grands brûlés), la culture des virus (production de vaccin ou diagnostic).

5. Marquage des molécules

5.1. Définition

Le marquage des molécules est la fixation, sur une molécule, d'un signe de reconnaissance facilement identifiable qui autorise le suivi d'un composé dans un organisme, un organe, un tissu ou dans la cellule. Le marquage utilise soit les isotopes radioactifs (autohistoradiographie), soit des composés fluorescents.

5.2. Techniques immunocytochimiques

L'immunocytochimie est l'application à la cellule de techniques fondées sur l'antigénicité des protéines afin de les localiser de manière spécifique et de suivre leur évolution. .

5.2.1. Préparation des anticorps

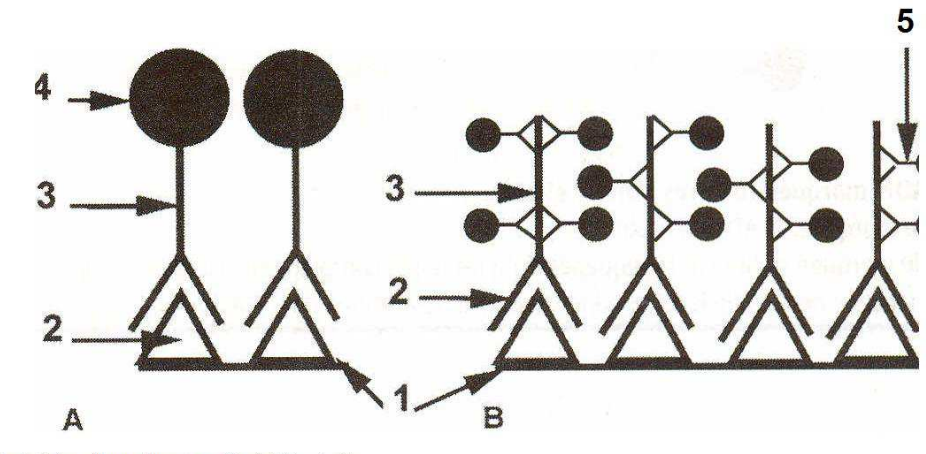


Un anticorps spécifique de l'antigène (protéine) à étudier, est préparé par injection de cet antigène purifié à un animal appartenant à une autre espèce que celle dont on a extrait l'antigène injecté. L'animal traité synthétise un 'anticorps spécifique contre cet antigène. L'anticorps ainsi obtenu se fixe sur la protéine qui est à l'origine de sa fabrication.

5.2.2. Marquage de l'anticorps

Afin de visualiser le complexe antigène-anticorps, on associe à l'anticorps un système marqueur (ou révélateur) composé d'une molécule détectable en microscopie:

- ✓ une substance fluorescente (par exemple l'isothiocyanate de fluorescéine)
- ✓ une enzyme (peroxydase du raifort, phosphatase alcaline) à l'origine de la production d'un précipité coloré.
- ✓ marqueurs métalliques (ferritine, or colloïdal) utilisés essentiellement en microscopie électronique.

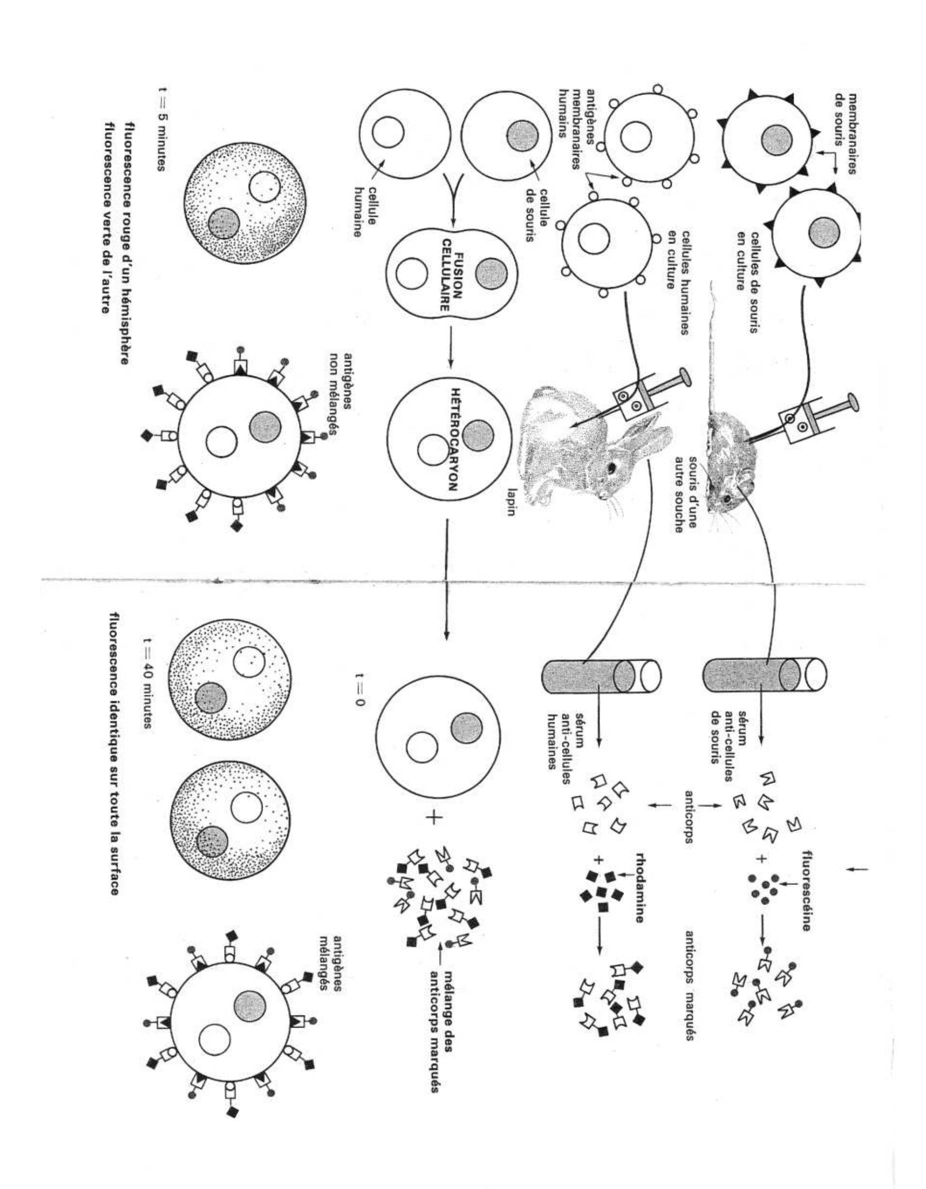


Les techniques d'immunofluorescence (d'après **Poirier** *et coll.*).
A. Mise en évidence directe. 1. Membrane plasmique. 2. Antigène à localiser. 3. Anticorps anti-A. 4. Molécule fluorescente.
B. Mise en évidence indirecte. 1. Membrane plasmique. 2. Antigène A à localiser. 3. Anticorps primaire anti-A. 4. Anticorps secondaire (anti-anticorps anti-A). 5. Molécule secondaire marquant l'anticorps secondaire.

5.2.3. Techniques de détection

- ✓ Immunocytochimie directe: Les anticorps repérables par leur marqueur se fixent sur leur antigène. Le complexe antigène-anticorps-marqueur est alors détectable en microscopie.

- ✓ Immunocytochimie indirecte: elle permet d'augmenter la sensibilité de la réaction, en combinant deux types d'anticorps: les anticorps anti-protéine (anticorps primaires) qui ne sont pas porteurs de marqueurs et des anticorps anti-anticorps primaires (anticorps secondaires) porteurs de marqueurs. La préparation est d'abord traitée par des anticorps primaires: ils se combinent avec la protéine X puis les anticorps secondaires se fixent alors sur les anticorps primaires.



5.2.4. Exemple d'application : la mobilité des protéines

On injecte à un lapin des cellules de souris maintenues en culture in vitro. Le lapin réagit en produisant des anticorps anti-cellule de souris. Ces anticorps sont marqués à la fluoresceine (fluorescence verte au microscope à lumière U-V). On injecte à un autre lapin des cellules d'homme en culture. Le lapin réagit en produisant des anticorps anti-cellule d'homme, ces anticorps seront marqués à la rhodamine (fluorescence rouge au microscope à lumière U-V).

On provoque la fusion entre les cellules de souris et les cellules humaines. Il se forme des hétérocaryons contenant chacun un noyau de souris et un noyau humain.

Au temps T=0mn: on ajoute à l'hétérocaryon un mélange d'anticorps marqués par la rhodamine et la fluorescéine, pour identifier la position des glycoprotéines (antigènes) de l'homme et de la souris dans la membrane de l'hétérocaryon ; 5mn après l'addition du mélange d'anticorps marqués, on observe au microscope à U-V, une fluorescence rouge d'un hémisphère de l'hétérocaryon et une fluorescence verte de l'autre hémisphère. Donc les anticorps marqués se sont fixés sur les antigènes correspondants c'est à dire les glycoprotéines membranaires.

40 mn après l'addition des anticorps marqués, on observe au microscope à U-V, une fluorescence homogène (verte et rouge) sur toute la surface de l'hétérocaryon.

Donc le complexe antigène-anticorps de type souris et de type humain se sont mélangés dans la membrane de l'hétérocaryon. On peut conclure que les protéines membranaires se déplacent ou diffusent dans la membrane plasmique.

5.3. Marquage par des isotopes radioactifs

Le principe de cette technique repose sur l'insertion dans une molécule donnée un isotope radioactif à la place d'un atome stable naturellement présent dans cette molécule. La molécule ainsi marquée est suivie beaucoup plus facilement dans l'organisme ou dans un tissu.

En général, le protocole est basé sur le modèle Pulse-chase qui comprend deux étapes :

- Pulse : c'est l'exposition des cellules vivantes, pendant une période brève, à un précurseur fortement radioactif assimilable.
- Chase : les cellules subissent de nombreux lavages afin d'éliminer les précurseurs radioactifs non assimilés. Elles sont ensuite incubées sans radioactivité. L'expérience consiste ensuite à suivre le cheminement de la radioactivité dans la cellule.

L'intérêt de cette technique est double: elle peut permettre de suivre les transformations de la molécule marquée en d'autres molécules dans les voies métaboliques. Elle peut permettre aussi de suivre la radioactivité à travers les différents compartiments cellulaires.

La radioactivité est suivie par deux types de techniques :

- Les compteurs de type Geiger ou de type scintium qui détectent la radioactivité et la transforment en signal électrique mesurable.
- Autohistoradiographie : Une émulsion photographique liquide est versée (en chambre noire) sur la préparation. En séchant, elle forme une pellicule sur les cellules. Les régions occupées par l'isotope réduisent l'argent à leur contact. La coupe est traitée, après plusieurs jours d'exposition, comme une pellicule photographique (révélateur puis fixateur), de telle sorte que les grains d'argent réduit apparaissent. Les techniques d'autohistoradiographie sont très efficaces pour étudier la répartition de nombreuses molécules, leur déplacement ainsi que les fonctions cellulaires.

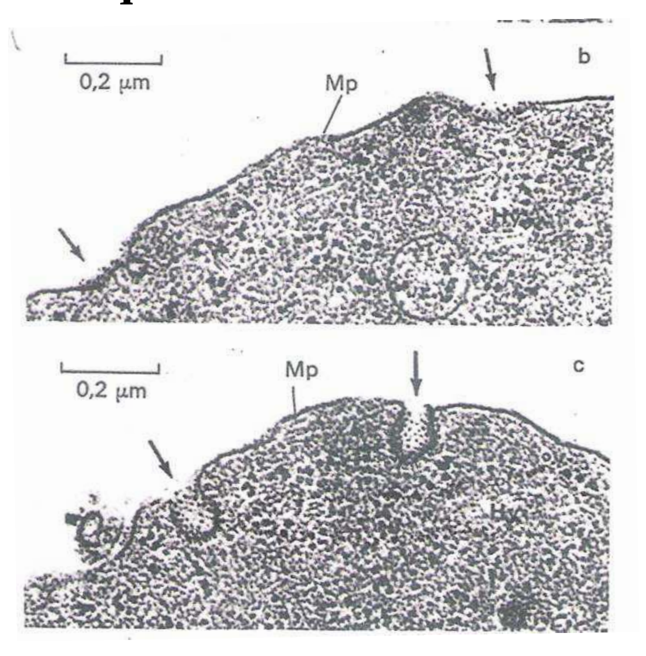
Exemple: le marquage de la cystéine par du soufre 35 permet de connaître le chemin qu'elle parcourt dans le cartilage. La cystéine marquée est injectée à plusieurs rats: ils sont sacrifiés à des intervalles réguliers après l'injection. Le cartilage prélevé est préparé pour un examen en microscopie optique ou en MET.

5.4. Marquage par des substances fluorescentes

Un analogue fluorescent résulte du couplage de la molécule à étudier avec un colorant fluorescent. Cet analogue est introduit dans la cellule par micro-injection avec une micropipette de verre dont l'extrémité a un diamètre de l'ordre du micron. Il est ainsi facile de suivre, grâce à la microscopie à épifluorescence ou confocale, la dynamique des microtubules en injectant un analogue fluorescent de la tubuline couplé à une molécule de rhodamine. Les analogues se polymérisent en MT qu'il est alors possible de voir individuellement bien que leur diamètre est à peine supérieur au pouvoir de résolution de la microscopie optique.

Chapitre 4

La membrane plasmique



1. Définition

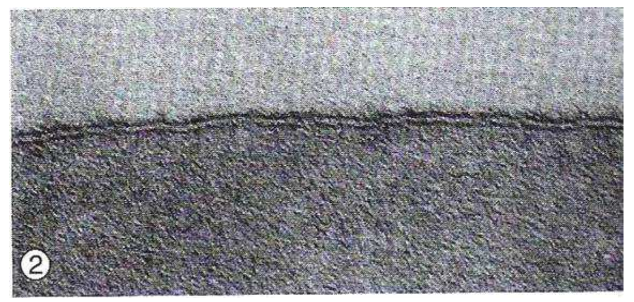
C'est la membrane qui limite la partie vivante de la cellule et la sépare du milieu externe. Son épaisseur est de 75 Å.

2. Structure membranaire

2.1. Au microscope électronique à transmission

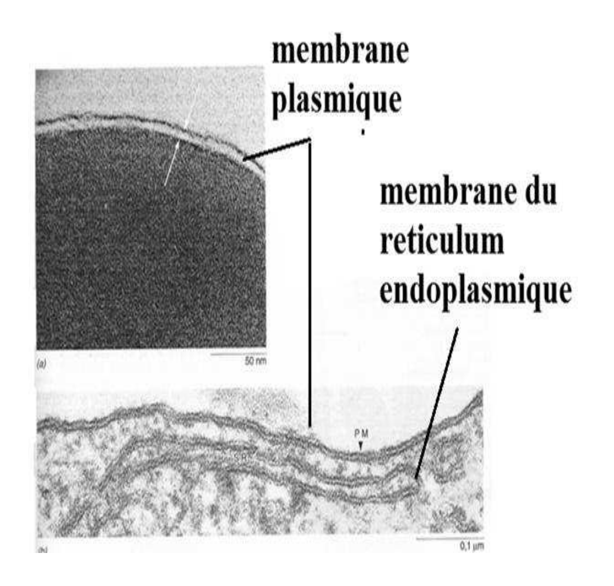
La membrane est impossible à observer au microscope optique.

Le microscope électronique à transmission permet de découvrir à faible grossissement (environ 40000 à 50000 fois), une structure simple, dense et noire.



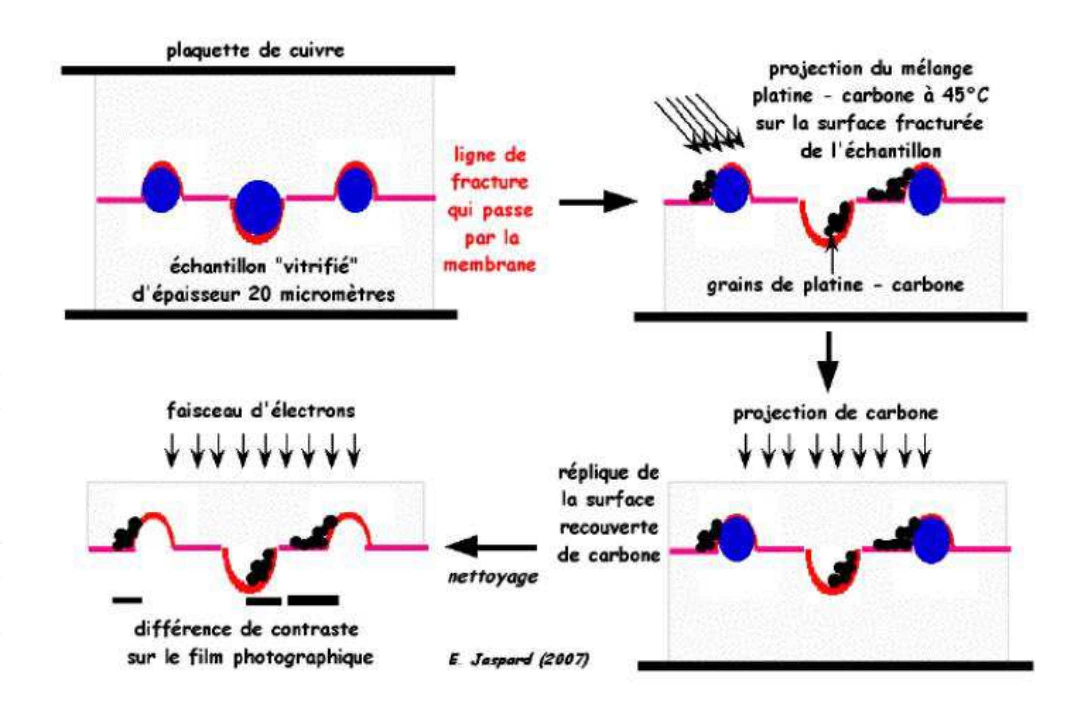
Un grossissement plus fort (>150000x) révèle une structure trilaminaire avec: deux feuillets denses (20Å) de nature protéique entourant un feuillet clair (35Å) de nature lipidique: **Modèle de Davson et Danielli (1954).**

Cette structure trilaminaire s'observe aussi dans membranes internes (membrane de la mitochondrie, des plastes, du reticulum endoplasmique…): on parle **<u>d'unité membranaire</u>**.



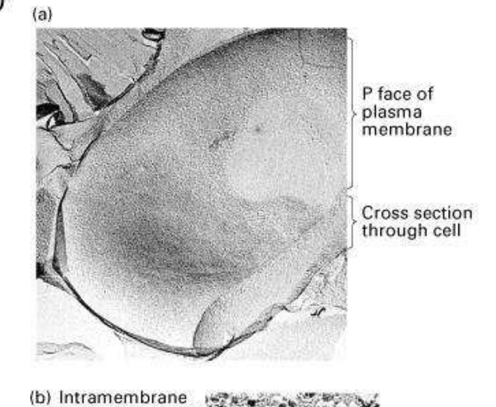
2.2. Observation à l’intérieur de la membrane par cryofracture

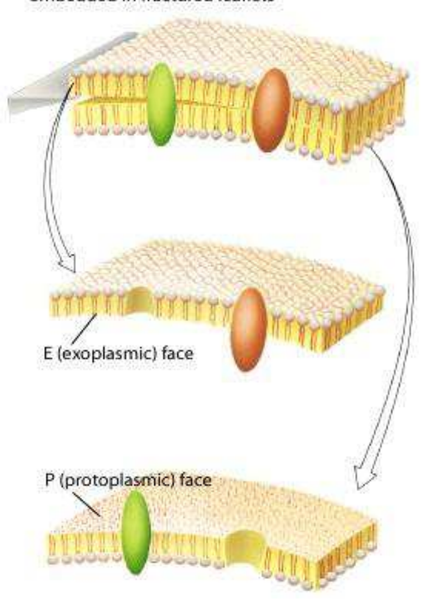
C’est une technique qui permet d’observer les structures ou les molécules à l’intérieur de la membrane. Son principe est le suivant:



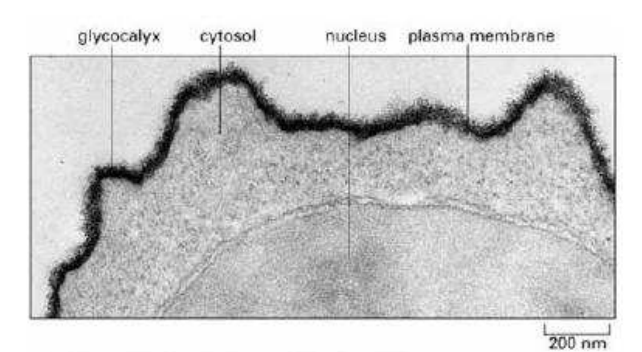
Source : "Cryofracture" (CNRS)

- l'échantillon à étudier est plongé à -170°C (azote liquide) ou -200°C (propane liquide).
- l'échantillon est fracturé en deux parties. La ligne de fracture passe par bicouche lipidique de la membrane de moindre résistance.
- un alliage de platine et de carbone est projeté sur la surface fracturée, avec un angle de 45°. Le métal se dépose avec une épaisseur qui varie selon le relief de la surface: on obtient une réplique de la surface fracturée.
- une couche uniforme de carbone est vaporisée à 90° afin d'augmenter la résistance mécanique de la réplique.
- l'échantillon couvert de sa réplique de [platine / carbone] est déposé sur une grille de microscope électronique à transmission.
- Le carbone est traversé par les électrons mais le platine les arrête plus ou moins totalement selon l'épaisseur rencontrée par le faisceau d'électrons. Un film photographique traduit les informations sur le relief en contraste de gris.





La cryofracture révèle ainsi la localisation des protéines membranaires et met en évidence des protéines intégrées dans la bicouche lipidique de disposition différente entre la face E (exoplasmique) et la face P (protoplasmique):les protéines intrinsèques.



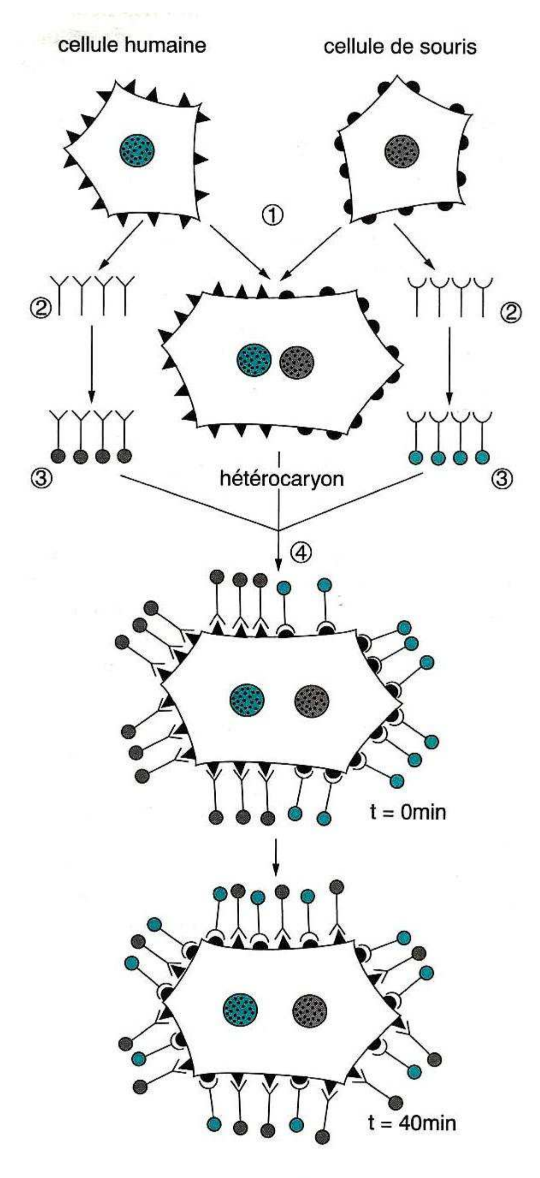
La glycocalyx vue en microscopie électronique

2.3. Revêtement fibreux glucidique ou glycogalyx

Ce revêtement est localisé à la surface externe de la membrane plasmique. Il s'agit de chaînes glucidiques attachées soit aux protéines soit aux lipides membranaires

2.4. Mobilité des protéines et fluidité membranaire

On procède à la fusion de deux cellules différentes: des cellules de souris marquées par la fluorescéine qui émet une lumière verte (visible) et des cellules d'Homme marquées par la rhodamine qui émet une lumière rouge.



La cellule hybride ou hétérocaryon parait à moitié verte et moitié rouge à 5 mn. Mais à 40 mn, les marquages vert et rouge sont dispersés sur toute la surface membranaire.

Donc, les protéines membranaires sont mobiles:

La membrane est donc fluide.

3. Organisation moléculaire de la membrane plasmique

3.1. Composition chimique de la membrane

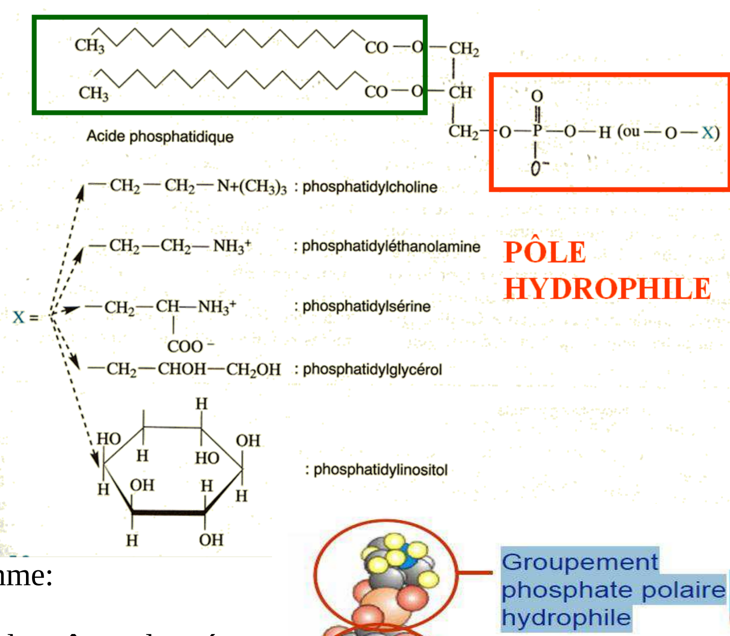
L’analyse chimique de la membrane plasmique montre qu’elle est formée de:

- 60% de protéines et glycoprotéines
- 40% de lipides (surtout des phospholipides)

3.2. Les lipides membranaires

Il y a trois catégories principales de lipides membranaires :

- Les phospholipides
- Les glycolipides
- Les stérols

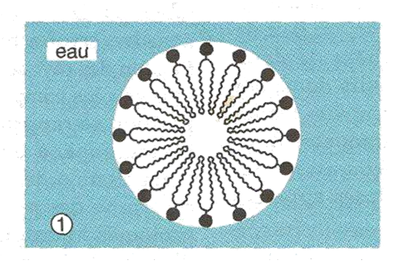


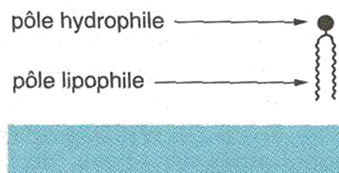
Tous ces lipides sont amphiphiles: ils présentent 2 pôles:

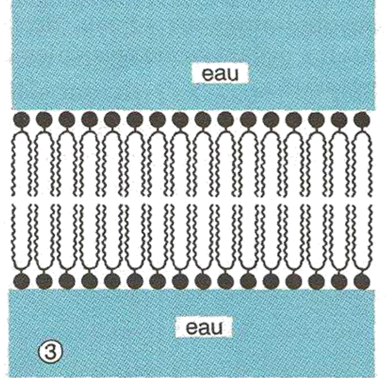
- Un pôle hydrophile ou lipophobe
- Un pôle hydrophobe ou lipophile

Ces lipides amphiphiles dirigent leur pôle hydrophile vers l’eau et les pôles lipophiles sont protégés de l’eau. Par conséquent, ces lipides adoptent spontanément plusieurs conformations comme:

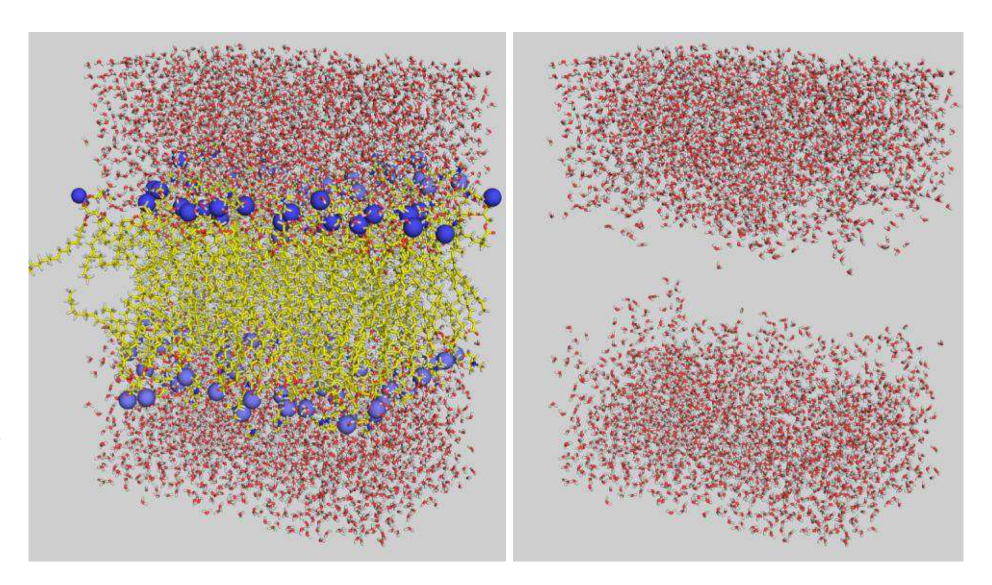
- Des monocouches: une seule couche avec les têtes plongées dans l’eau
- Des micelles surtout lorsque leurs chaines d’acides gras sont courtes.
- Des dispositions en bicouches



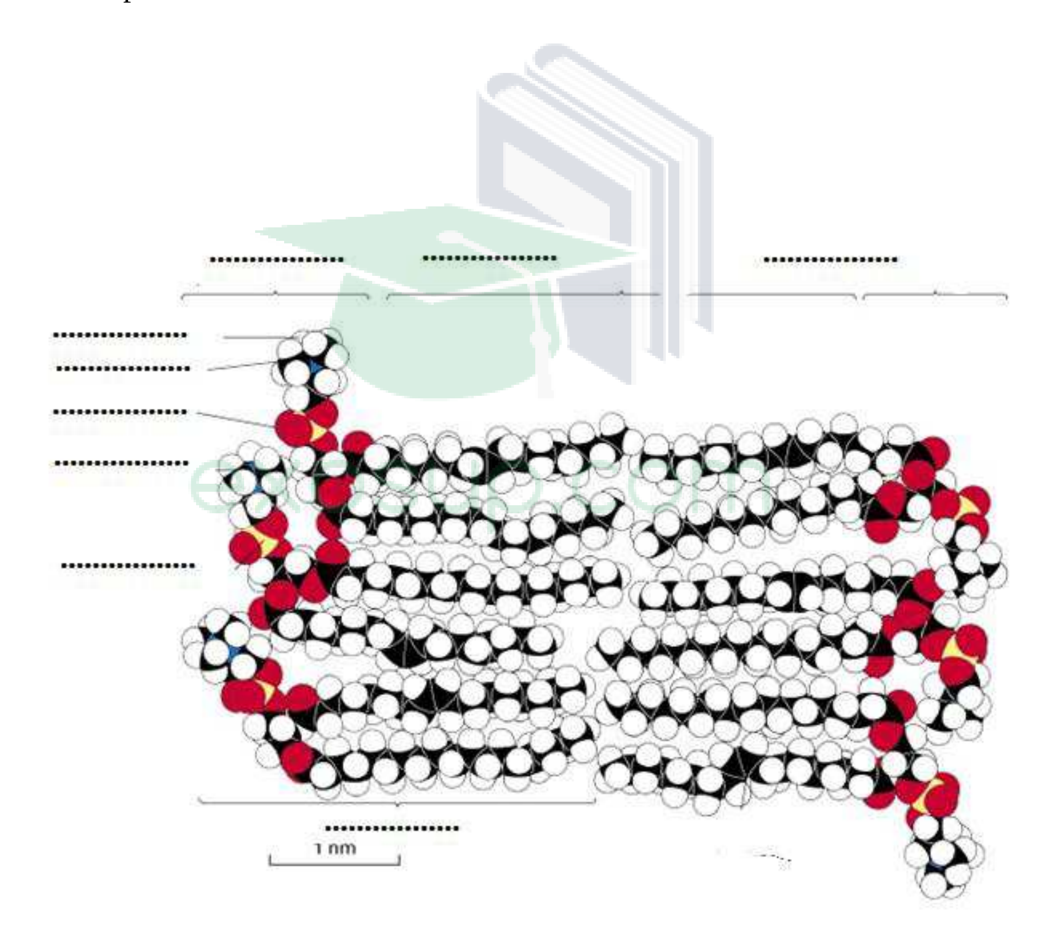




L’eau (rouge) est limitée aux côtés périphériques alors que les parties hydrophobes (jaune et bleu) sont limtées à la partie centrale: c’est donc une disposition en bicouche.



La disposition des lipides dans la membrane sont donc comme suit :

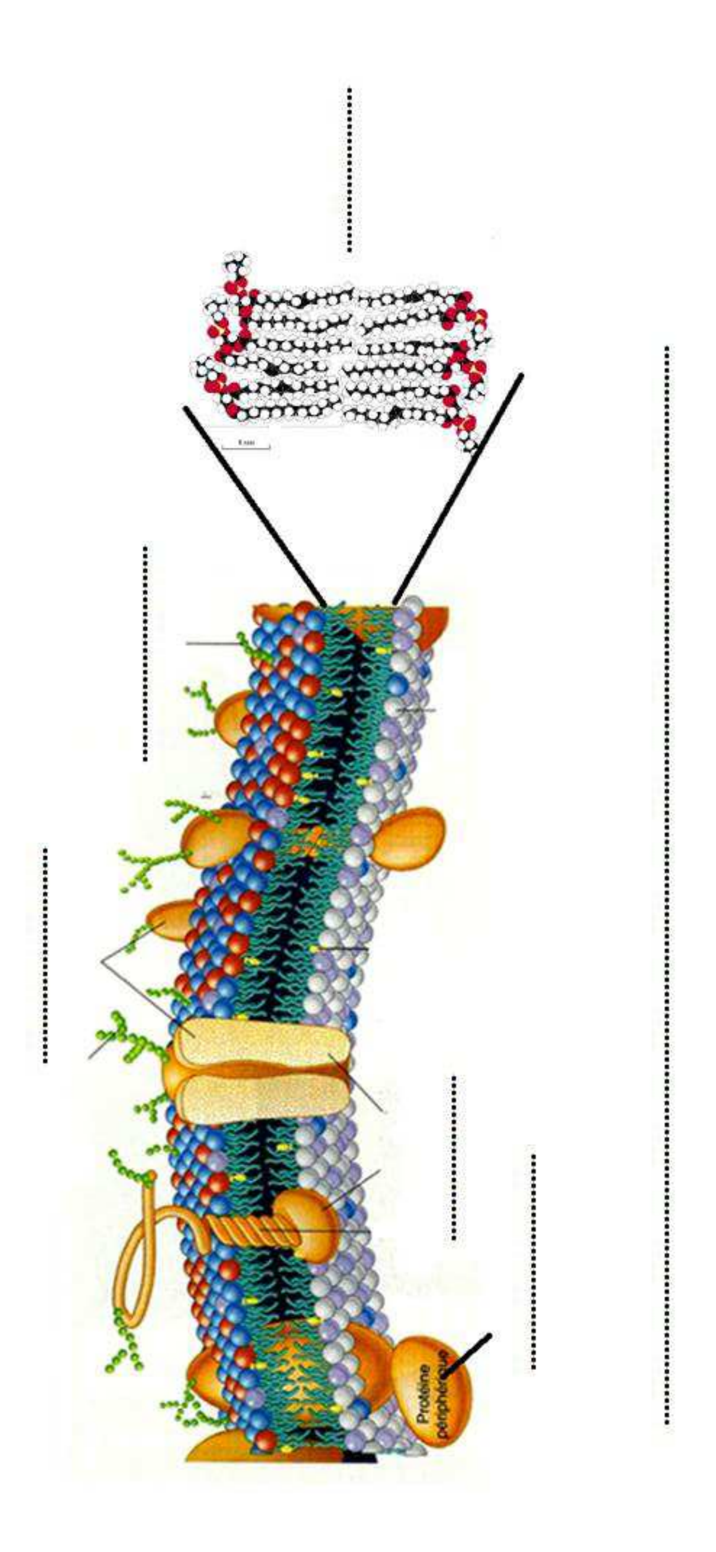


3.3. Les protéines et les glucides membranaires

La membrane comprend aussi des protéines. Il y a des protéines extrinsèques des côtés cytoplasmiques et externes et des protéines intrinsèques intégrées dans la bicouche lipidique. Il y a aussi le revêtement glucidique ou glycocalyx du côté externe.

3.4. Modèle moléculaire de la membrane plasmique

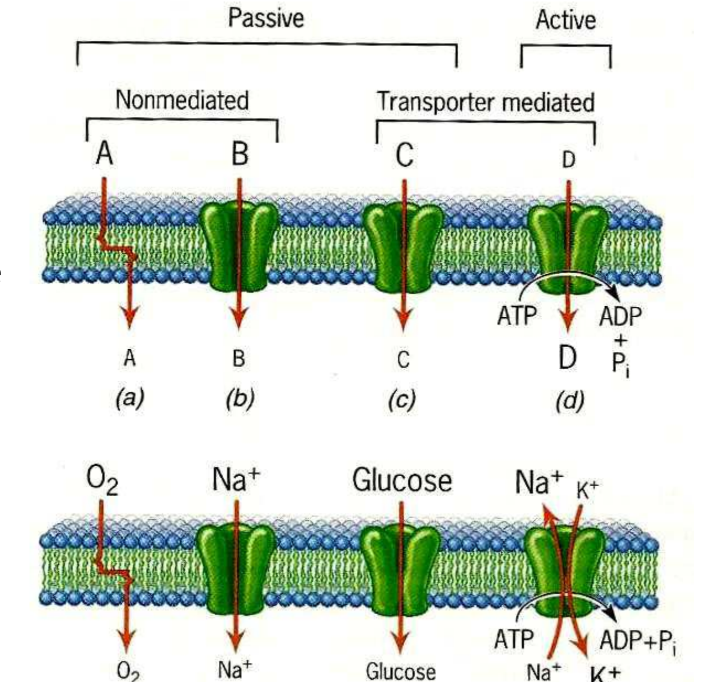
La membrane plasmique est une structure fluide (mobilité des protéines) formée d'une bicouche lipidique dans laquelle baignent des protéines intrinsèques comme une mosaïque: c'est le modèle de la mosaïque fluide décrit par Singer et Nicholson en 1972.



4. Fonctions de la membrane plasmique

- La compartimentation (séparation de l'extérieur et l'intérieur de la cellule) et la protection de la vie cellulaire.
- La régulation des échanges cellulaires.
- Les phénomènes de reconnaissance (antigènes de surface)
- La signalisation : réception et transduction des signaux du milieu extérieur (lumière, hormone,….) ou d'autres cellules (récepteurs hormonaux, jonctions gap).
- Procure un site pour les réactions chimiques ne pouvant pas se produire dans un environnement aqueux
- Les mouvements cellulaires (pseudopodes …).

5. Perméabilité membranaire.



Il s'agit du passage de l'eau et des molécules dissoutes à travers la structure membranaire. Il y a 4 types fondamentaux de transport:

- La simple diffusion à travers la bicouche lipidique.
- La diffusion à travers un canal aqueux.
- Le transport facilité par un transporteur.
- Le transport actif par une pompe.

5.1. La diffusion

La diffusion est le processus spontané au cours duquel une substance se déplace d'une région où une concentration est élevée vers une région de faible concentration c'est-à-dire selon la loi de l'**osmose**

a. Transport de l'eau

L'eau se déplace, selon la **loi de l'osmose**, du compartiment le moins concentré (**hypotonique**) vers le compartiment le plus concentré (**hypertonique**). des contraintes cellulaires empêchent parfois le passage d'eau.

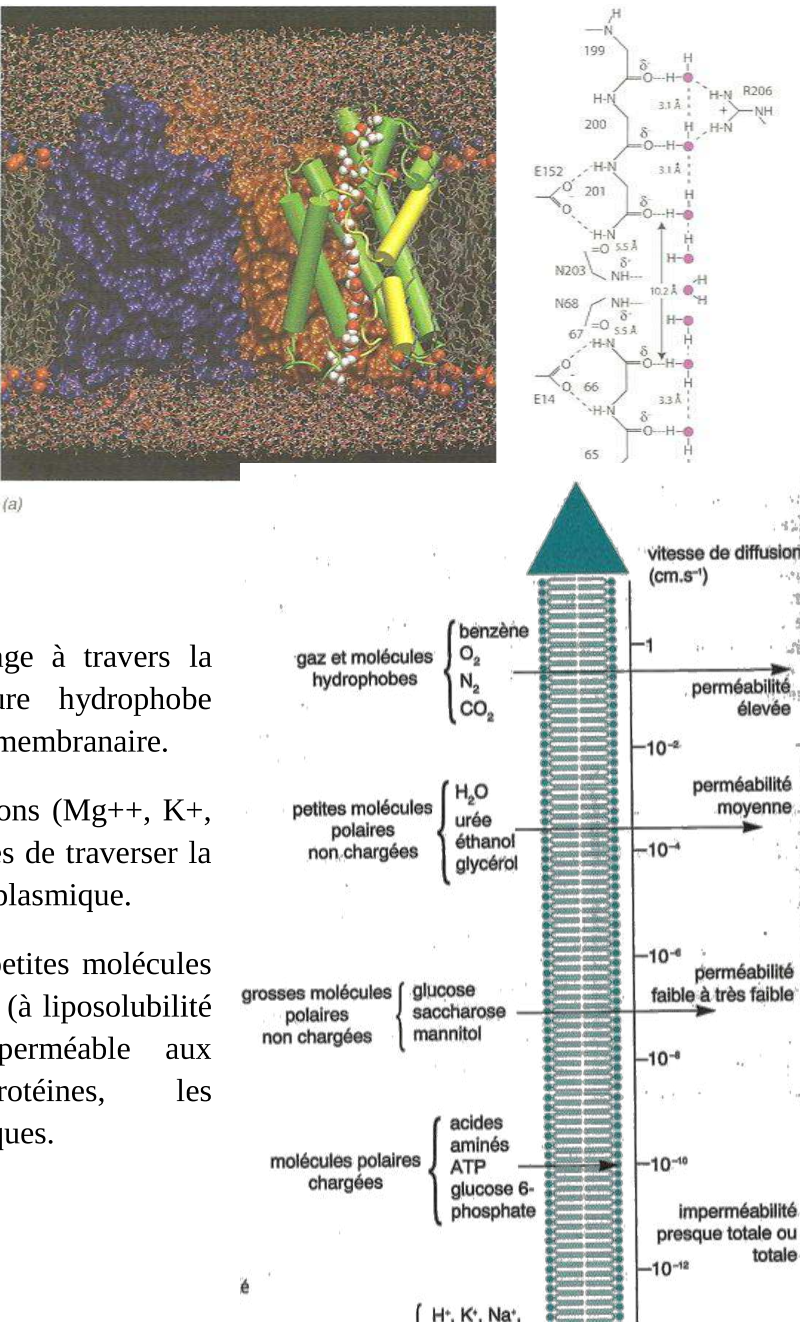
Ce transport se fait selon deux processus:

- Une diffusion lente à travers la bicouche lipidique.
- Une diffusion rapide à travers un canal protéique permettant le passage spécifique des molécules d'eau en file indienne: les **aquaporines**

b. Transport des substances dissoutes

La perméabilité membranaire aux molécules dissoutes est influencée par trois facteurs principaux:

- La liposolubilité favorise la passage à travers la membrane à cause de la nature hydrophobe (lipophile) de la bicouche lipidique membranaire.
- La charge électrique empêche les ions (Mg++, K+, Cl-) très hydratés et très hydrophiles de traverser la bicouche lipidique de la membrane plasmique.
- La taille limite la diffusion. Les petites molécules traversent plus vite que les grandes (à liposolubilité égale). La membrane est imperméable aux macromolécules comme les protéines, les polysaccharides et les acides nucléiques.

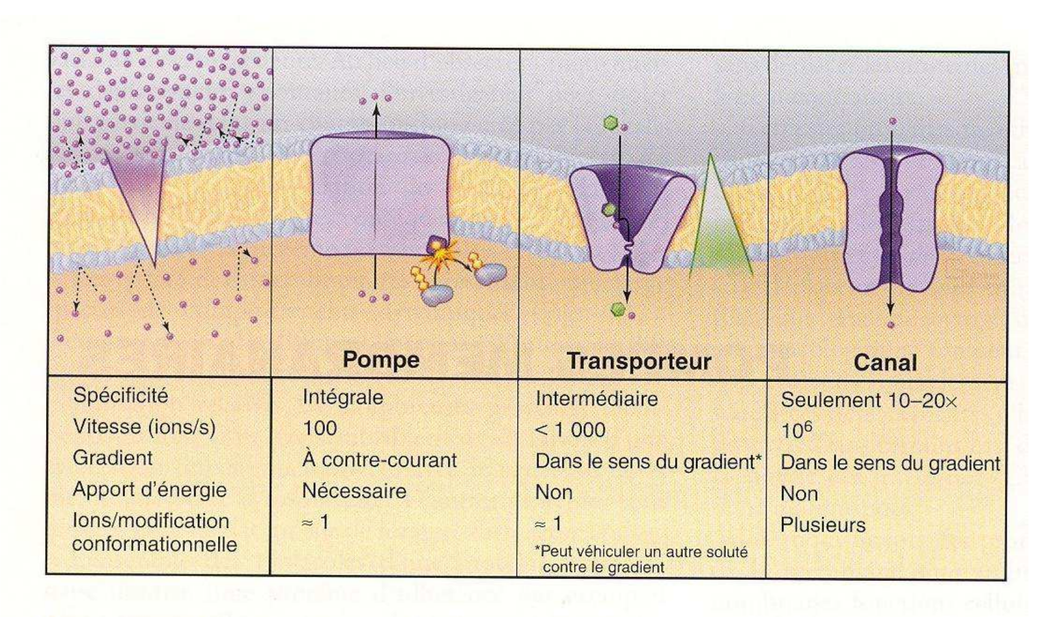


5.2. Transport par les protéines membranaires

Les substances dissoutes qui ne peuvent pas diffuser par la membrane plasmique nécessitent l’intervention de 3 types de protéines membranaires: **les canaux, les pompes ou les transporteurs ou facilitateurs.**

a. Canaux

Les canaux sont des protéines intrinsèques en pores permettant à certains ions ou à des molécules de petite taille de traverser la bicouche lipidique par milliers voire millions d'ions dans le sens du gradient électrochimique. C’est une autre forme de diffusion.

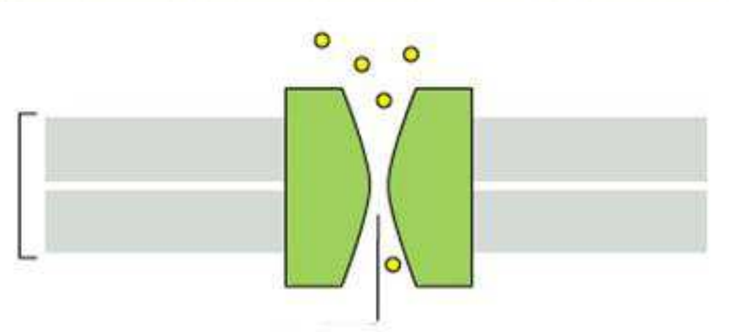


	Pompe	Transporteur	Canal
Spécificité	Intégrale	Intermédiaire	Seulement 10–20×
Vitesse (ions/s)	100	< 1 000	10^6
Gradient	À contre-courant	Dans le sens du gradient*	Dans le sens du gradient
Apport d’énergie	Nécessaire	Non	Non
Ions/modification conformationnelle	≈ 1	≈ 1	Plusieurs

*Peut véhiculer un autre soluté contre le gradient

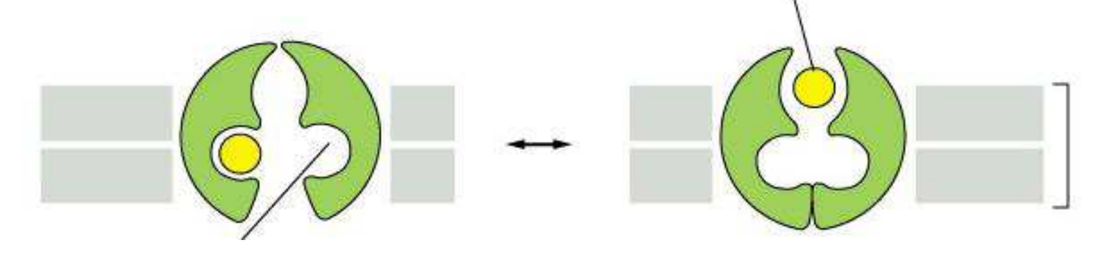
Il y a des canaux ouverts de façon constante ou constitutive.

D’autres s’ouvrent suite à une excitation électrique (cellules nerveuses et musculaires ou **un état osmotique** particulier (cellules épithéliales du rein).



b. Transporteurs ou facilitateurs

Les transporteurs ne font passer qu’un nombre limité d’ions et présentent un fonctionnement qui rappelle les mécanismes enzymatiques. C’est un transport passif qui se fait dans le sens du gradient de diffusion et ne nécessite pas d’énergie.

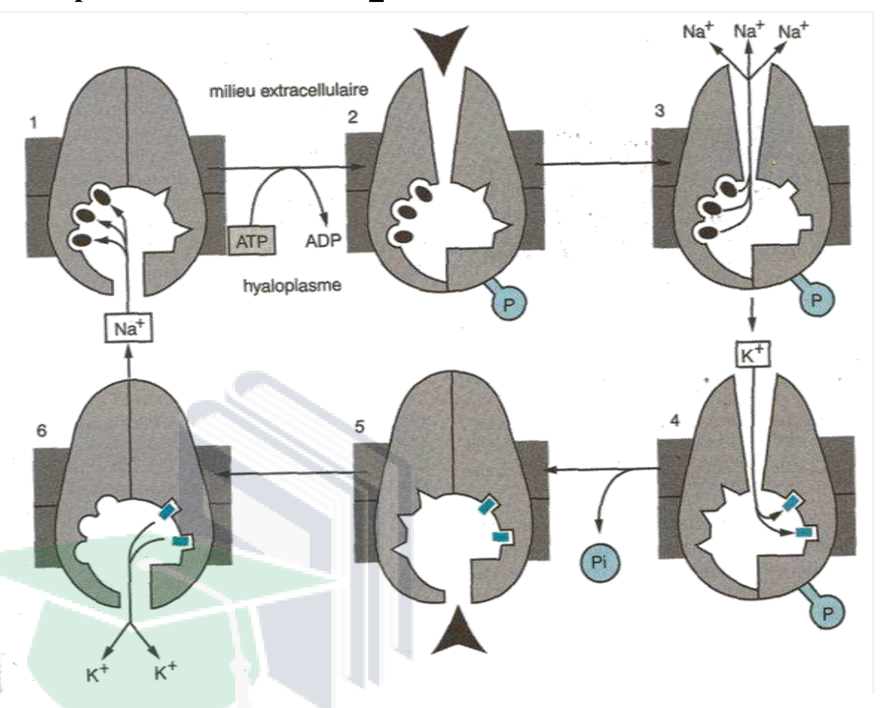


c. Pompes

Ce sont des transporteurs actifs qui assurent le passage contre le gradient et donc nécessitent la consommation d'ATP.

Exemple: pompe Na^+/K^+ dans la cellule épithéliale de l'intestin_

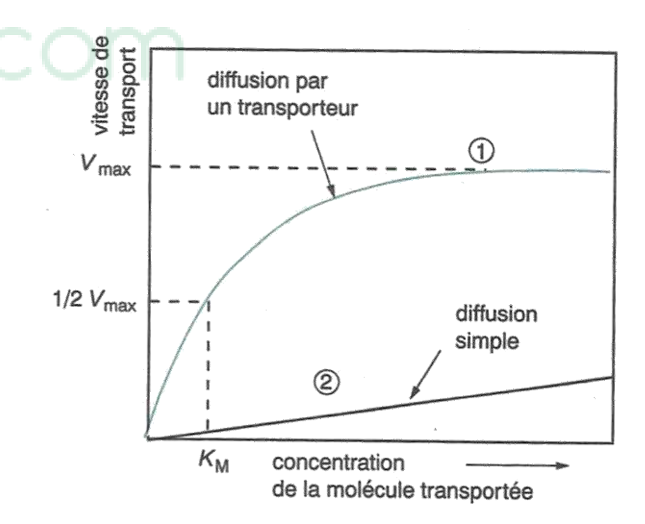
- Les ions Na^+ se fixent au niveau de 3 sites de la pompe ouverte vers l'intérieur de la cellule.
- L' ATP est ensuite fixée et dégradée par la pompe qui change de conformation pour s'ouvrir vers l'extérieur.
- Les Na^+ sont libérés vers l'extérieur et les K+ occupent deux sites.
- Les 2 K^+ sont libérés à l'intérieur après le retour de la pompe à l'état de repos.



d. Cinétique de transport

La différence entre les trois types de transports est révélée par la vitesse de transport de l'élément en fonction de sa concentration:

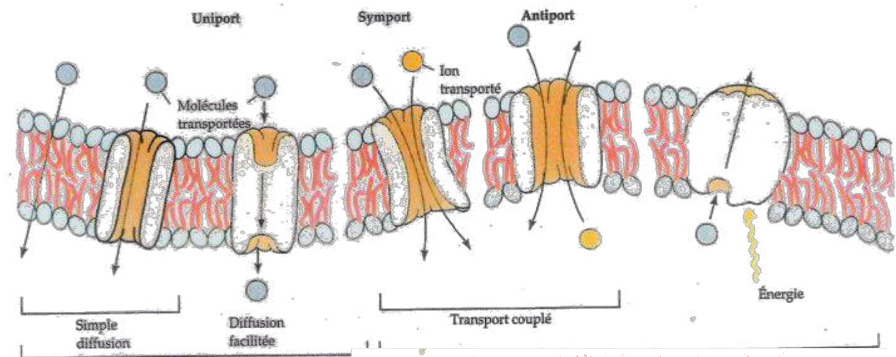
- ✓ Le transport d'un élément est linéaire dans le cas d'une diffusion simple.
- ✓ Dans le cas d'un transport facilité, il y a un palier qui montre l'existence d'un état de saturation.
- ✓ Dans le cas d'un transport actif, le transport ne se fait qu'en présence d'une source d'énergie.



d. Différents sens de transport

Les transporteurs passifs et actifs fonctionnent selon trois systèmes:

- Système uniport – transport d'une molécule à travers la membrane à l'aide d'un transporteur
- Système symport – transport simultané de deux substances dans le même sens (ex. glucose et Na^+)
- Système antiport – transport simultané de deux substances dans des sens opposés (ex. Na^+/K^+).

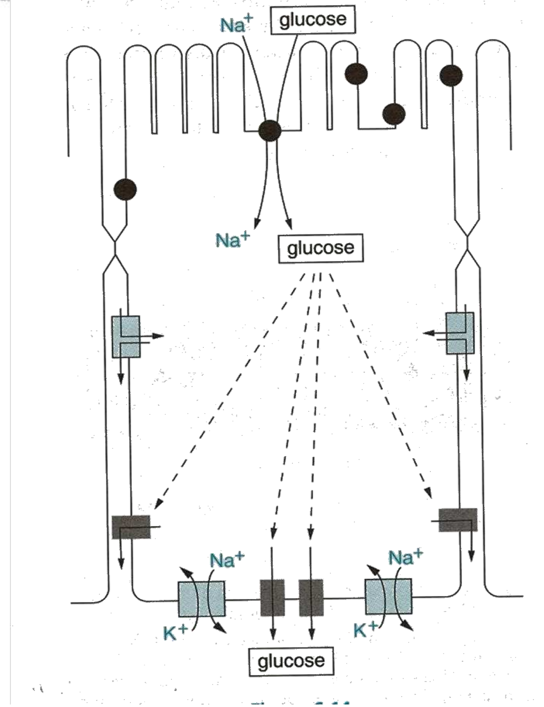


e. Transport actif secondaire

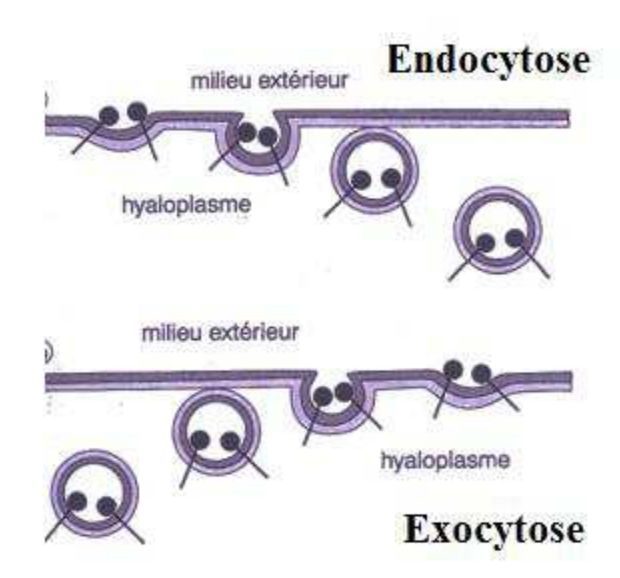
Le transport facilité peut parfois dépendre dans son fonctionnement d'un transport actif concomitant..

Exemple **la cellule épithéliale de l'intestin**

Dans ces cellules, le transport du glucose se fait par des transporteurs passifs. Mais ce transport ne se fait que si une pompe sort le sodium de la cellule: **c'est un transport actif secondaire.**



5.3 Echanges par endocytose et exocytose



Ce sont des processus de transport impliquent des phénomènes de fusion des bicouches lipidiques membranaires après que celles-ci se soient étroitement juxtaposées. Les substances absorbées (endocytose) ou sécrétées (exocytose) sont toujours séquestrées (enfermées) par une membrane et ne se mélangent jamais avec les constituants du hyaloplasme.

a. Endocytose

Processus par lequel la cellule ingère des liquides, des macromolécules, des particules et parfois même d'autres cellules dans une vésicule membranaire qui se détache de la membrane plasmique.
Ces phénomènes présentent des caractéristiques communes:

1) ils impliquent des phénomènes de fusion des bicouches lipidiques membranaires après que celles-ci se soient étroitement juxtaposées
2) les substances absorbées ou sécrétées sont toujours séquestrées par une membrane et ne se mélangent jamais avec les constituants du hyaloplasme. Il existe donc une certaine parenté biochimique entre membranes des vésicules et membrane cytoplasmique.

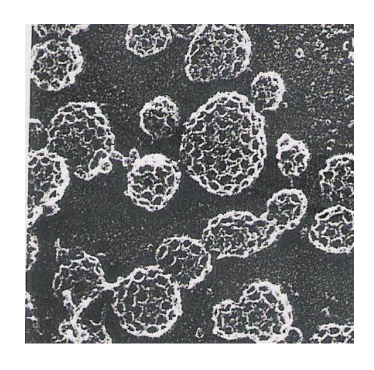
On distingue deux processus d'endocytoses:

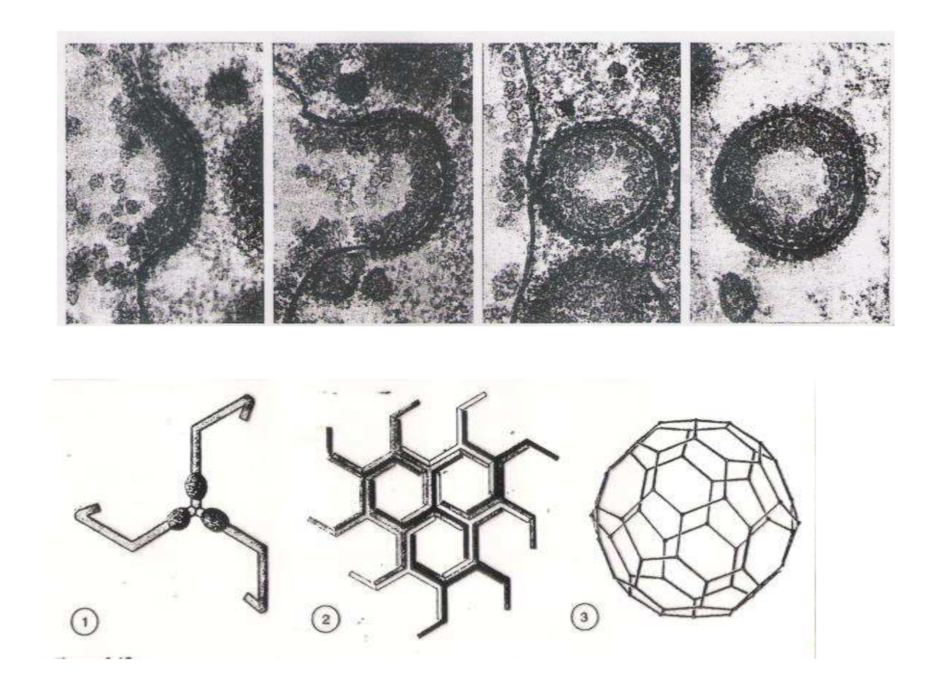
- la pinocytose (au sens étymologique, la «boisson» de la cellule), qui est l'ingestion de fluides ou de macromolécules, au moyen de petites vésicules de diamètre autour de 150 nm.
- la phagocytose qui est l'absorption de grosses particules ou de cellules, au moyen de vésicules de diamètre toujours supérieur à 250 nm, et pouvant même atteindre plusieurs µm: les **phagosomes** («l'alimentation» de la cellule).

Il y a une forme de pinocytose non spécifique qui permet d'ingérer de l'eau et des solutés sans concentration: c'est **la pinocytose en vrac** ou **pinocytose en phase liquide.**

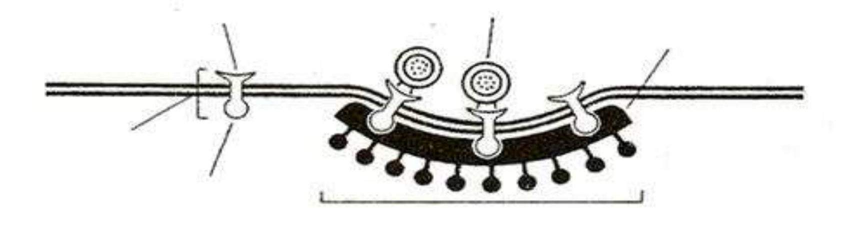
Par contre, la pinocytose dépendante de la clathrine débute par:

- l'invagination de disques épaissis de la membrane plasmique appelés «puits recouverts».
- Ces zones sont recouverts, sur leur face cytoplasmique par un réseau de protéines hexagonales appelé clathrine.
  Les protéines formant ce réseau sont appelées triskelions.



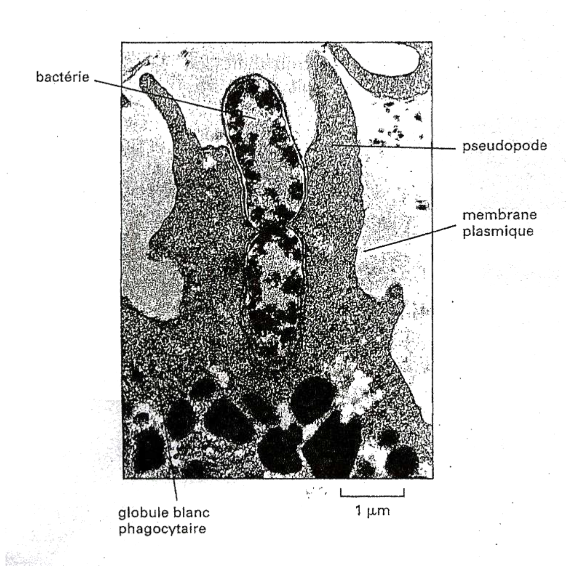


Cette forme de pinocytose est plus efficace et plus spécifique: les substances transportées sont d'abord reconnues et fixées par des récepteurs (protéines transmembranaires) ce qui permet une concentration du contenu des vésicules.



b. Phagocytose

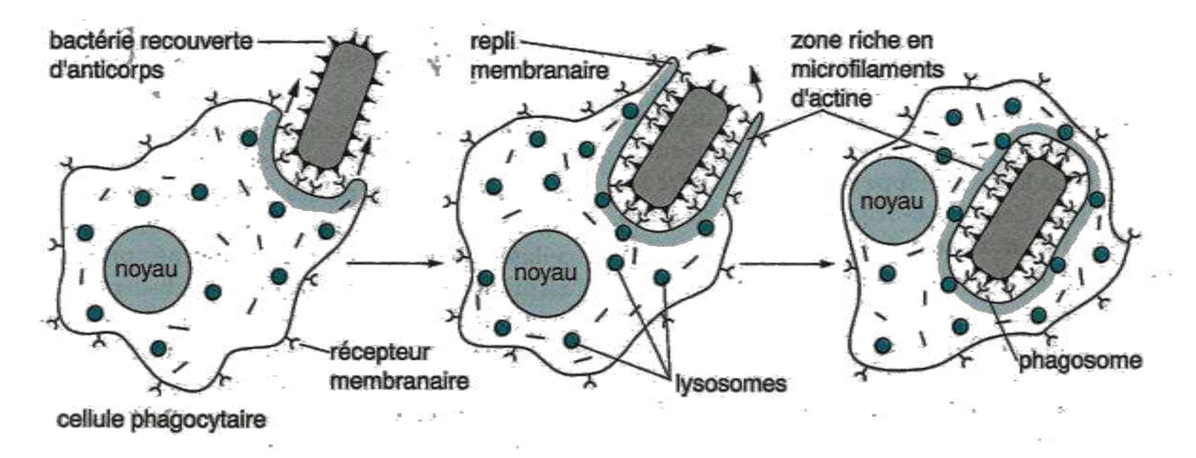
C'est l'ingestion de grosses particules comme des microorganismes ou des débris cellulaires dans de grosses vésicules ou vacuoles appelées « phagosomes » (>250 nm). On les trouve dans des cellules spécialisées: globules blancs (macrophages et neutrophiles) qui luttent contre l'infection et contre des cellules sénescentes ou endommagées et des débris cellulaires.



Lors de la phagocytose d'une bactérie, par exemple, les anticorps se lient à la surface des bactéries infectieuses en laissant une région exposée à l'extérieur. Ces régions seront reconnues et liées aux récepteurs dans la membrane des macrophages et des neutrophiles.

Cette liaison déclenche la formation de pseudopodes qui

engouffrent la particule et fusionnent à leur extrémité (à la manière d'une fermeture éclair) pour former un **phagosome**.



b. exocytose

L'exocytose se produit surtout par fusion des vésicules golgiennes avec la membrane plasmique (voir chapitre le système endomembranaire: appareil de Golgi).

5. Signalisation

La cellule reçoit des signaux de différentes natures: molécules chimiques, hormones, neurotransmetteurs, infection etc …On les appelle les « molécules informatives ».

Il s'agit de communication intercellulaire, souvent à distance se faisant entre deux types de cellules:

- La cellule de transmission synthétise le signal (molécule informative) et le fait sortir, souvent par exocytose, dans le milieu extracellulaire.
- La cellule cible capte le signal grâce à des récepteurs sur sa membrane plasmique.

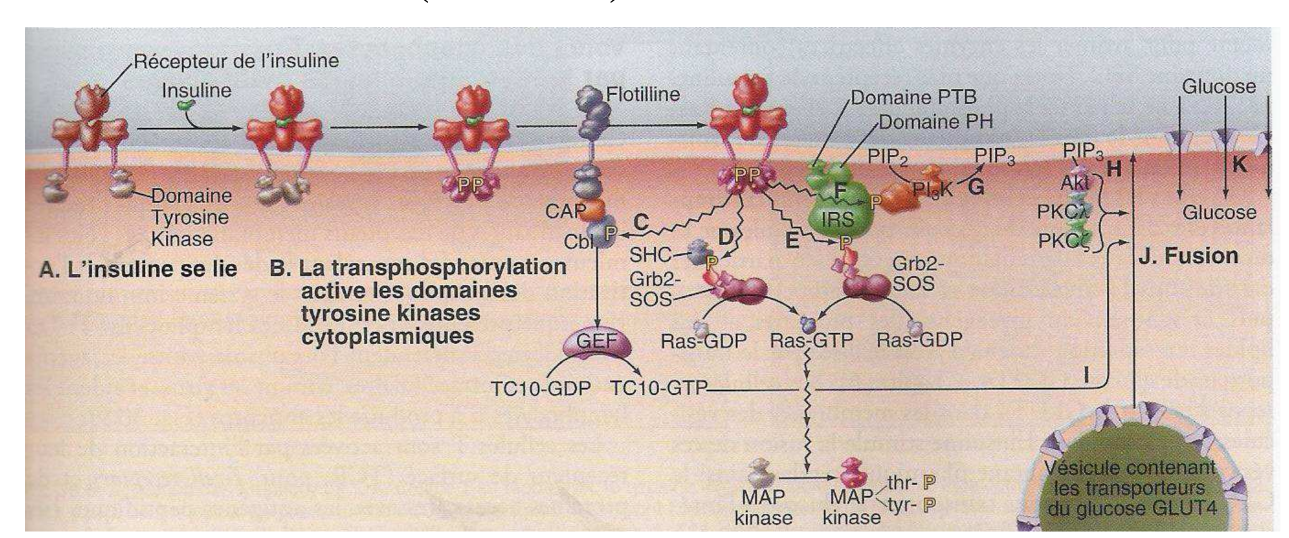
un récepteur qui est une protéine spécifique composée de deux parties:

- récepteur externe

- partie catalytique interne qui provoque une réponse cellulaire: c'est la transduction (réception d'un signal externe et formation d'un deuxième signal intracellulaire pour y répondre).

Exemple: cas de l'insuline

C'est une hormone protéique (51 aa), hydrophile. Cette hormone est synthétisée dans le pancréas et agit au niveau du foie et d'autres cellules (cellules cibles).



L'insuline (molécule informative) reconnaît les cellules cibles grâce aux récepteurs spécifiques de la membrane plasmique (500 à 100 000 récepteurs/cellule).

Le récepteur hormonal est une protéine intrinsèque transmembranaire composée de 2 parties:

- Une partie externe avec un site spécifique de reconnaissance de l'hormone et qui est capable de fixer l'insuline.
- Une partie interne enzymatique qui provoque la transphosphorylation de la partie catalytique qui est la tyrosine kinase.
- L'activation de la tyrosine kinase cytoplasmique active un ensemble de réactions qui aboutissent à la fusion de vésicules internes avec la membrane plasmique. La membrane de ces vésicules enrichit la membrane plasmique en transporteurs de glucose.



Chapitre 5

Le hyaloplasme

1. **Définition**

C'est la substance fondamentale de la cellule dans laquelle baignent les organites. Il représente 50 à 60% du volume cellulaire.

Le hyaloplasme avec les organites (sans le noyau) constituent le cytoplasme. Il comprend deux parties :

- ➢ Une solution aqueuse complexe (cytosol).
- ➢ Un réseau de filaments protéiques: le cytosquelette

2. **Composition chimique du cytosol**

Eau: 70%
Protéines: 15-20%
ARNm et ARNt
Divers solutés: sucres solubles, acides aminés, nucléotides, composés organiques, ions…

pH 7 (cellule animale)
pH 5,5 à 6 (cellule végétale)

Le hyaloplasme peut être solide (sous forme de gel) ou fluide (forme de « sol »)

Il y a dans le hyaloplasme de certaines cellules des réserves comme des inclusions de glycogène (hepathocytes) ou des inclusions de lipides (tissu adipeux, graines oléagineuses).

3. **Cytosquelette**

Le cytoplasme des cellules eucaryotes est sillonné par plusieurs types de structures fibreuses ou tubulaires qui participent à la fois à son architecture et à sa dynamique: **le cytosquelette.**

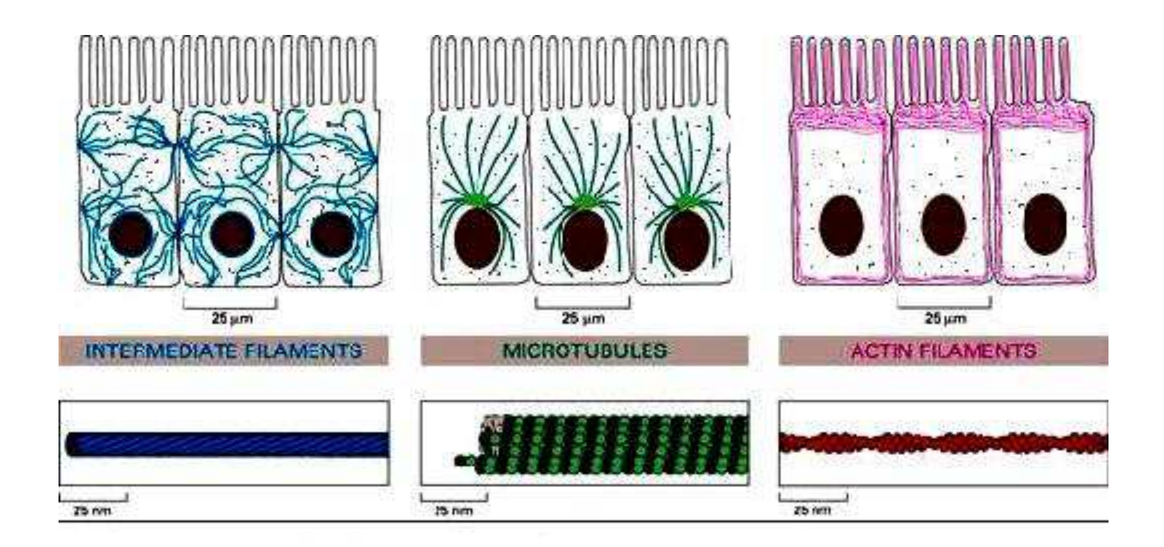
Il constitue à la fois «un squelette» et «une musculature» pour la cellule.

Trois réseaux sont identifiables au microscope électronique et en immunofluorescence chez les cellules animales:

- ➢ Microfilaments d'actine
- ➢ Microtubules.
- ➢ Filaments intermédiaires.

Les cellules végétales sont dépourvues de filaments intermédiaires.

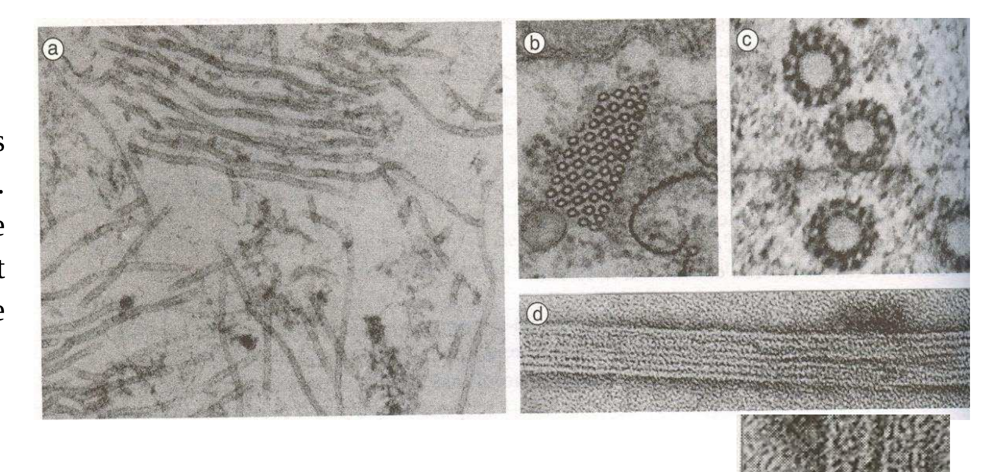
Réseau microtubulaire d'une cellule animale en culture observé en immunofluorescence



3.1. Microtubules

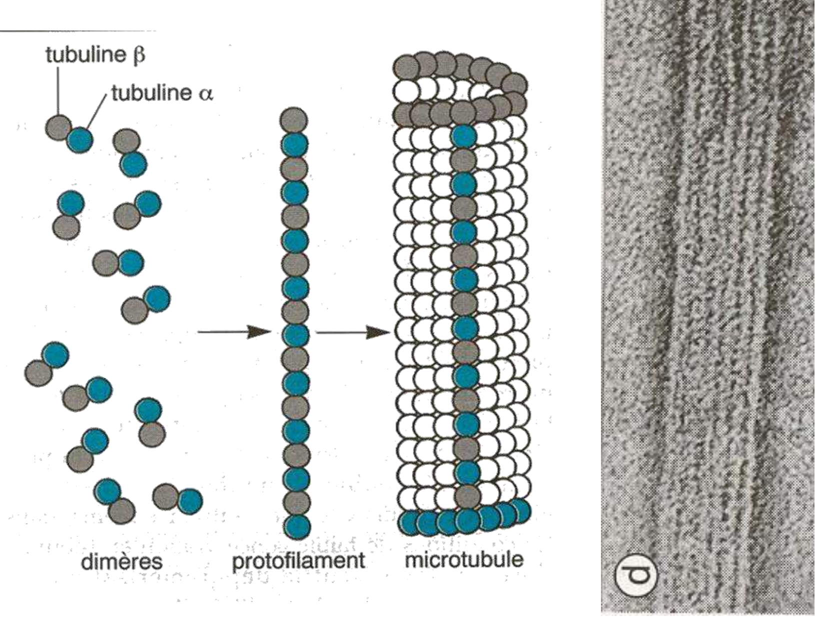
3.1.1. Structure

Ce sont des structures tubulaires linéaires de 25 nm de diamètre. Elles apparaissent sous forme de «rails» en coupe longitudinale et sous forme circulaire en coupe transversale.

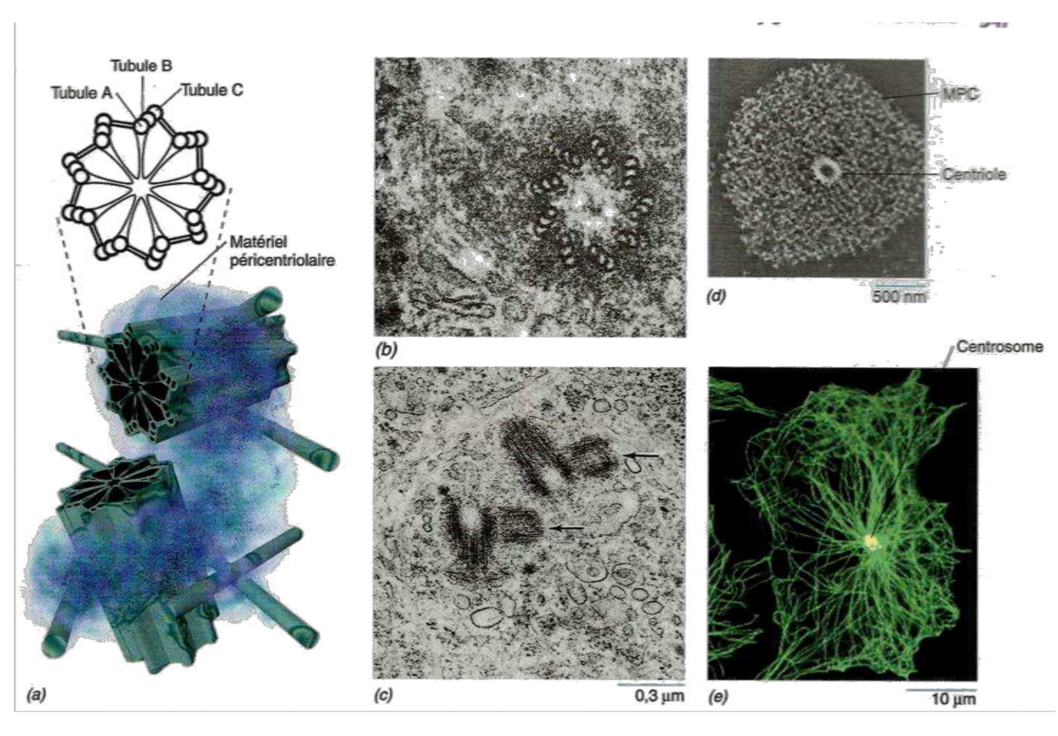


Le constituant principal est une protéine globulaire de 50 kDa: la globuline avec 2 sou-unités α et β. Celles-ci constituent spontanément des filaments linéaires appelés protofilaments qui, groupés côte à côte par groupes de 13, constituent la paroi du microtubule.

Les microtubules sont toujours accompagnés de protéines annexes appelés MAPs pour Stabiliser la structure, organiser des édifices complexes (centrioles, cils...) ou associer les microtubules à d'autres constituants cellulaires.



3.1.2. Fonctions des microtubules

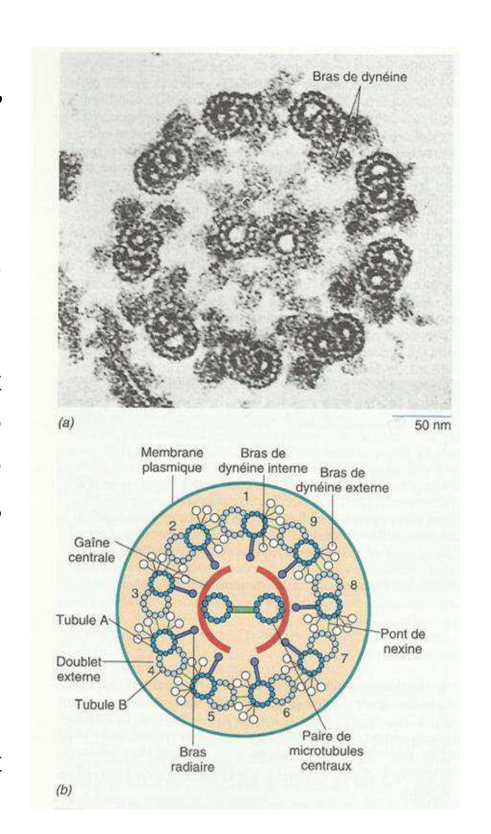


a. Constitution des Centrioles

Structures cylindriques de 0,5 µm de long sur 0,2 de diamètre, constitués de 9 triplets parallèles de courts microtubules, formés chacun de 3 microtubules accolés parallèlement les uns aux autres et partageant 2 à 3 protofilaments. Le microtubule le plus interne est entier et relié au centre par un bras radiaire. Les centrioles vont toujours par paires et sont le plus souvent situés à proximité l'un de l'autre en disposition perpendiculaire.

b. Constitution des cils et flagelles

◆ **Axonème**



Fines structures digitiformes de 0,25 µm de diamètre), souples et mobiles, portées par la surface des cellules.

Longueur des cils : 5-10µm et longueur des flagelles : jusqu'à 200 µm.

Limités par la membrane plasmique et portent en leur centre un système complexe de microtubules noyé dans le hyaloplasme: c'est l'axonème.

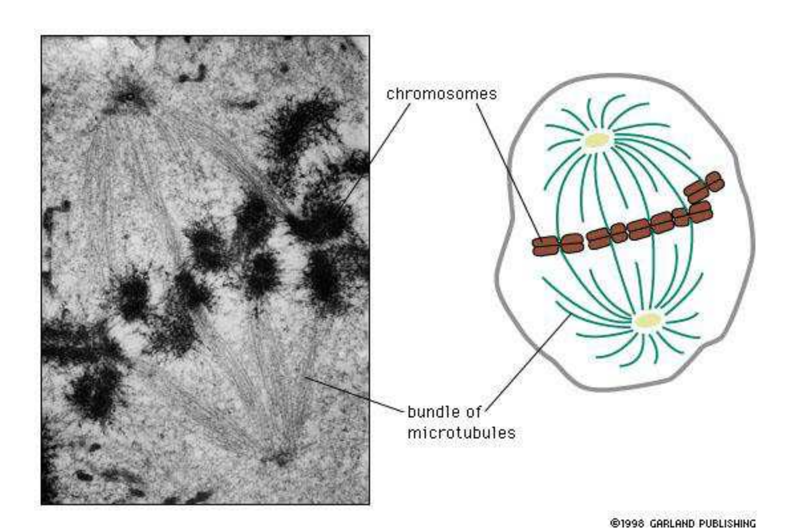
L'axonème est formé de 9 paires de microtubules périphériques (un complet et l'autre incomplet) et une paire centrale. Deux bras de dynéine partent de chaque doublet vers le doublet voisin. Des ponts tangentiels de nexine unissent les doublets. Des fibres rayonnantes unissent les doublets périphériques avec le doublet central.

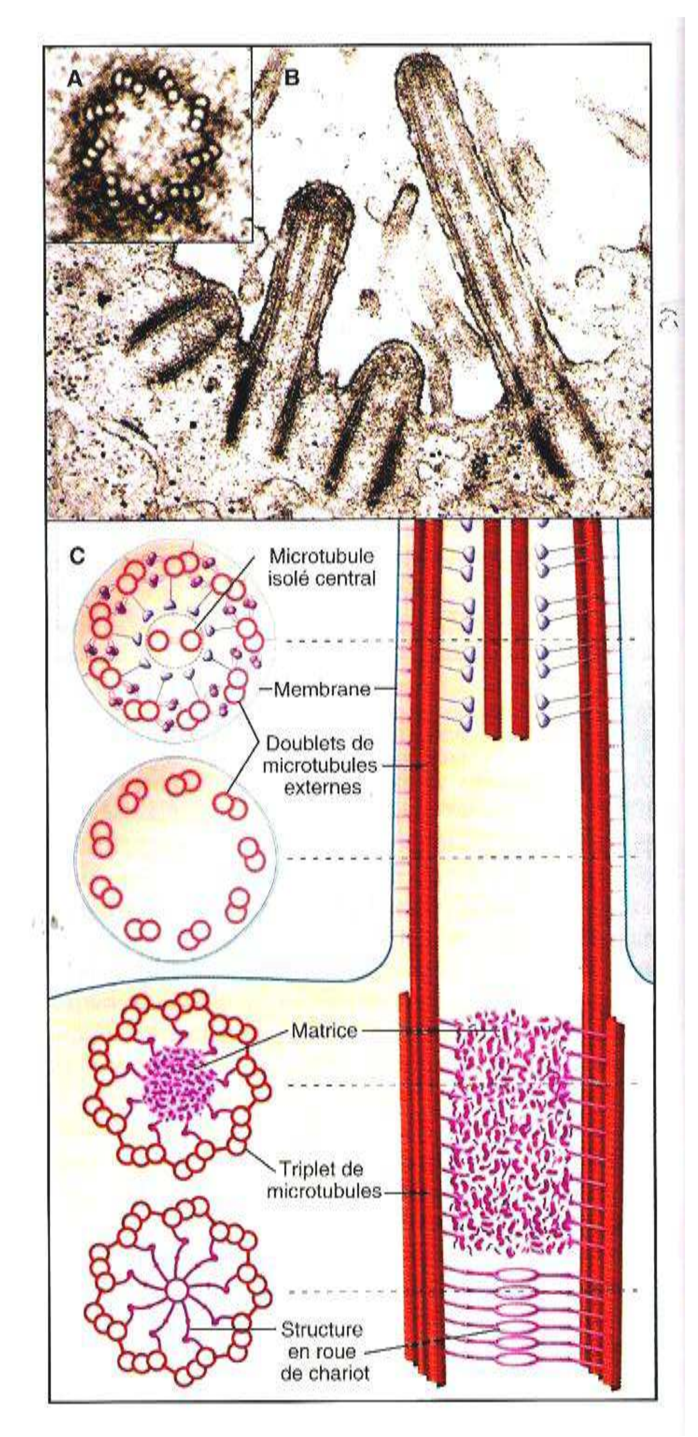
◆ **Corpuscules basaux ou cinétosomes**

Ce sont des structures rencontrées à la base des cils et des flagelles. Ils ont une organisation similaire à celle des centrioles.

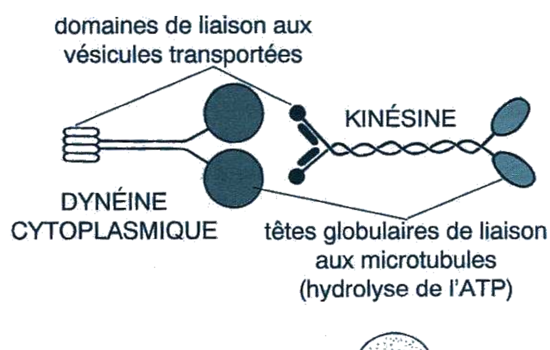
c. Constitution des faisceaux de division

Au cours de la mitose, le centrosome se duplique en 2 centrosomes fils. Chaque centrosome devient un pôle du fuseau. Le fuseau est constitué de deux types de microtubules: les microtubules polaires et les microtubules kinétochoriens.

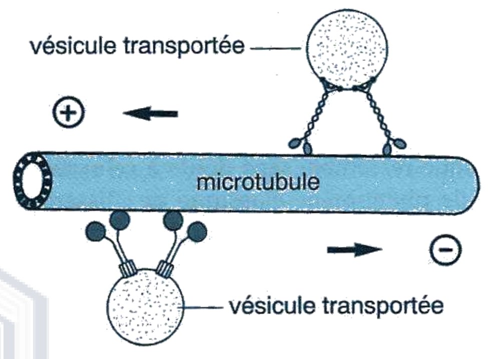




c. Transport interne de vésicules et d'organites

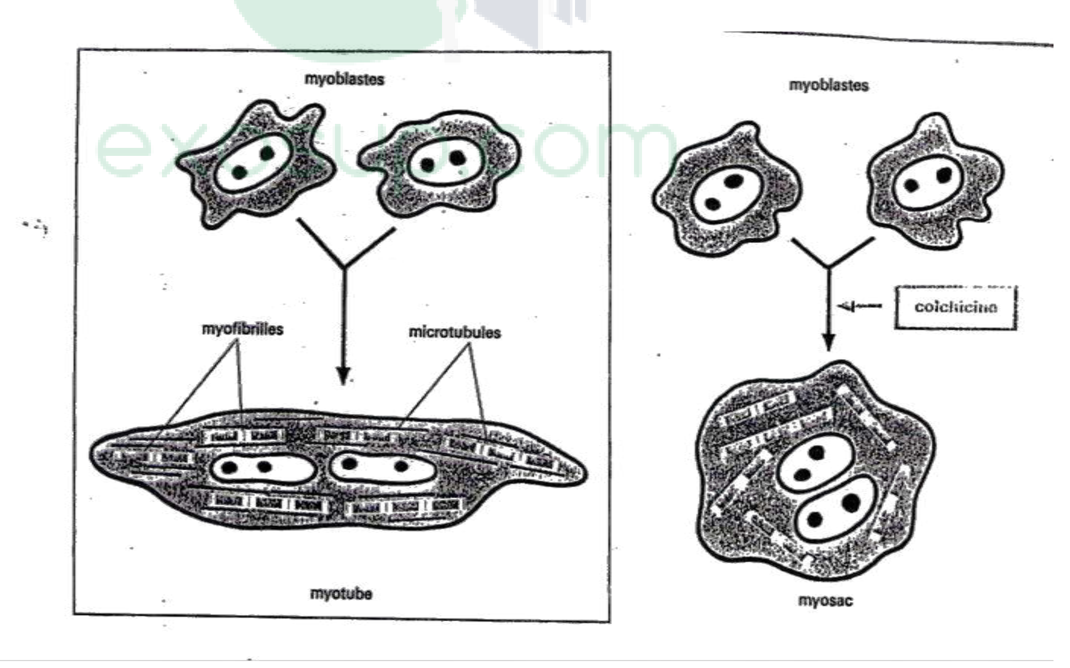


Les microtubules peuvent guider les mouvements de vésicules, de macromolécules, ou d'organites. C'est un mouvement polarisé . Par exemple, au niveau des axones, les kinésines sont responsables du transport de vésicules vers la terminaison nerveuse alors que les dynéines transportent leur chargement vers le corps cellulaire (extrémité -).



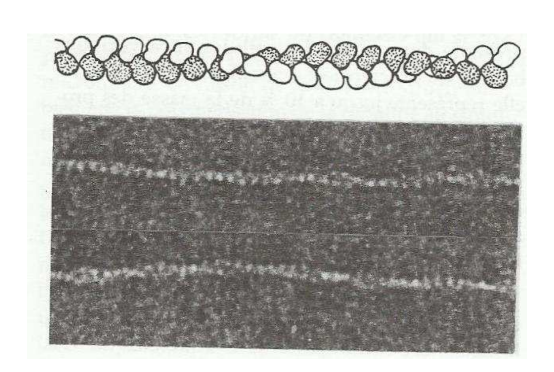
d. Orientation des mouvements cytoplasmiques et la différenciation d'une forme cellulaire

Les microtubules et les myofibrilles participent à l'orientation de l'allongement cellulaire lors de la différentiation. Le traitement des cellules par des substances qui perturbent l'allongement de ces fibres bloque l'allongement de la cellule.



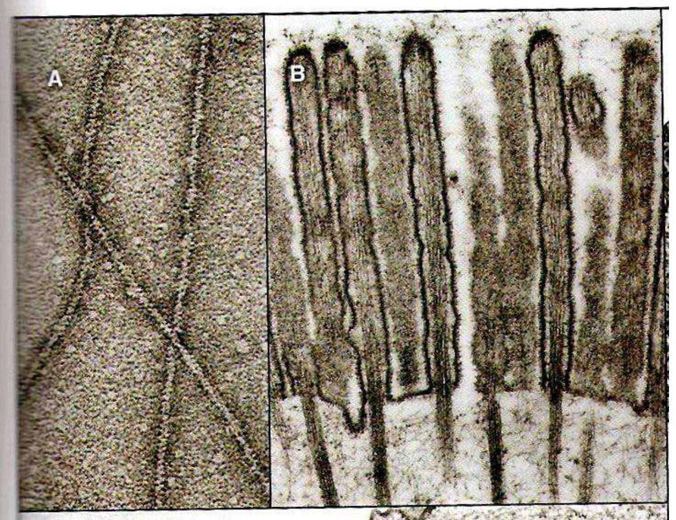
3.2. Microfilaments d’actine

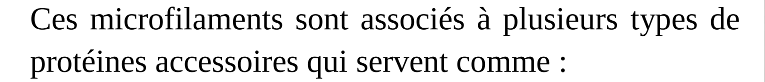
3.2.1. Structure



Ce sont des fibres fines contractiles de 7 à 8 nm d’épaisseur, constituées d’une protéine globulaire appelée: actine. Elles sont souvent organisées en faisceaux

Ces microfilaments existent dans toutes les cellules eucaryotes mais particulièrement abondantes dans certaines cellules comme les cellules musculaires (myofilaments) et les microvillosités de l’épithélium intestinal. Elles sont souvent localisées dans le cortex (près de la membrane plasmique) et sont relativement instables (labiles): elles peuvent s’allonger ou se raccourcir assez rapidement.





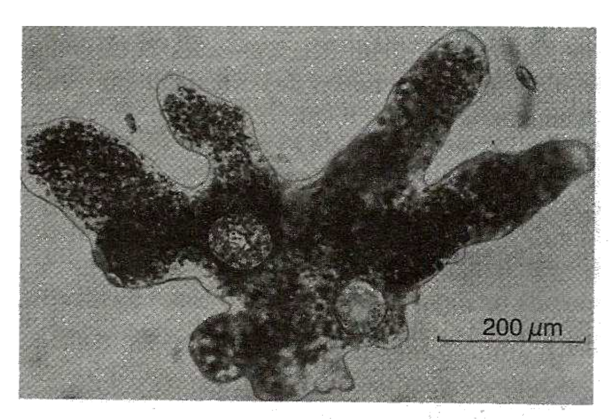
Ces microfilaments sont associés à plusieurs types de protéines accessoires qui servent comme :

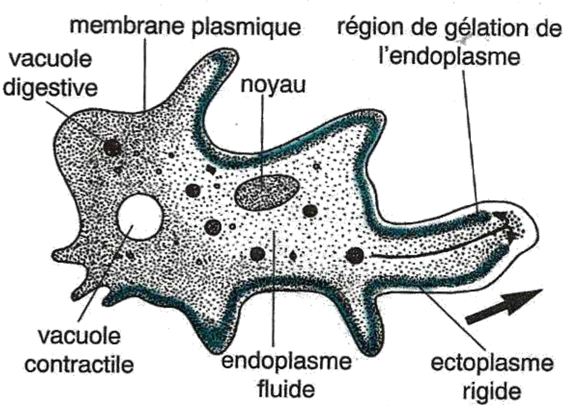
- ✓ Les protéines de rassemblement
- ✓ Les protéines de stabilisation ou de fragmentation.
- ✓ Les protéines de coiffage
- ✓ Les myosines

3.2.2. Rôles des filaments d’actine

Elles servent souvent pour le soutien hyaloplasmique comme dans les microvillosités de la cellule intestinale.

Elles agissent aussi dans les mouvements cellulaires: mouvements amiboïdes, cyclose dans la cellule végétale.



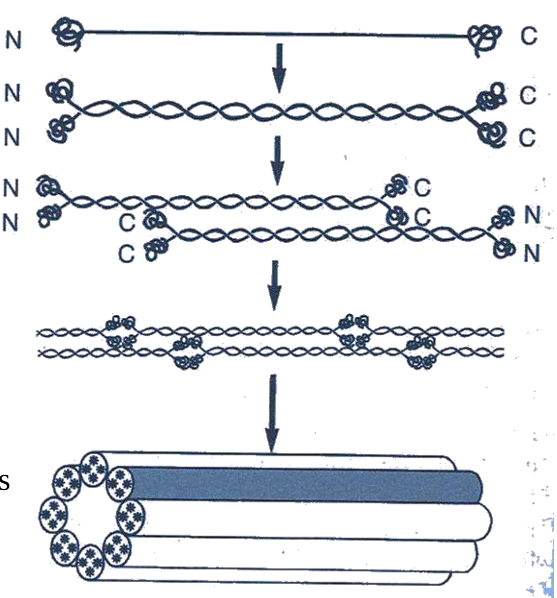


3.3. Filaments intermédiaires ou tonofilaments

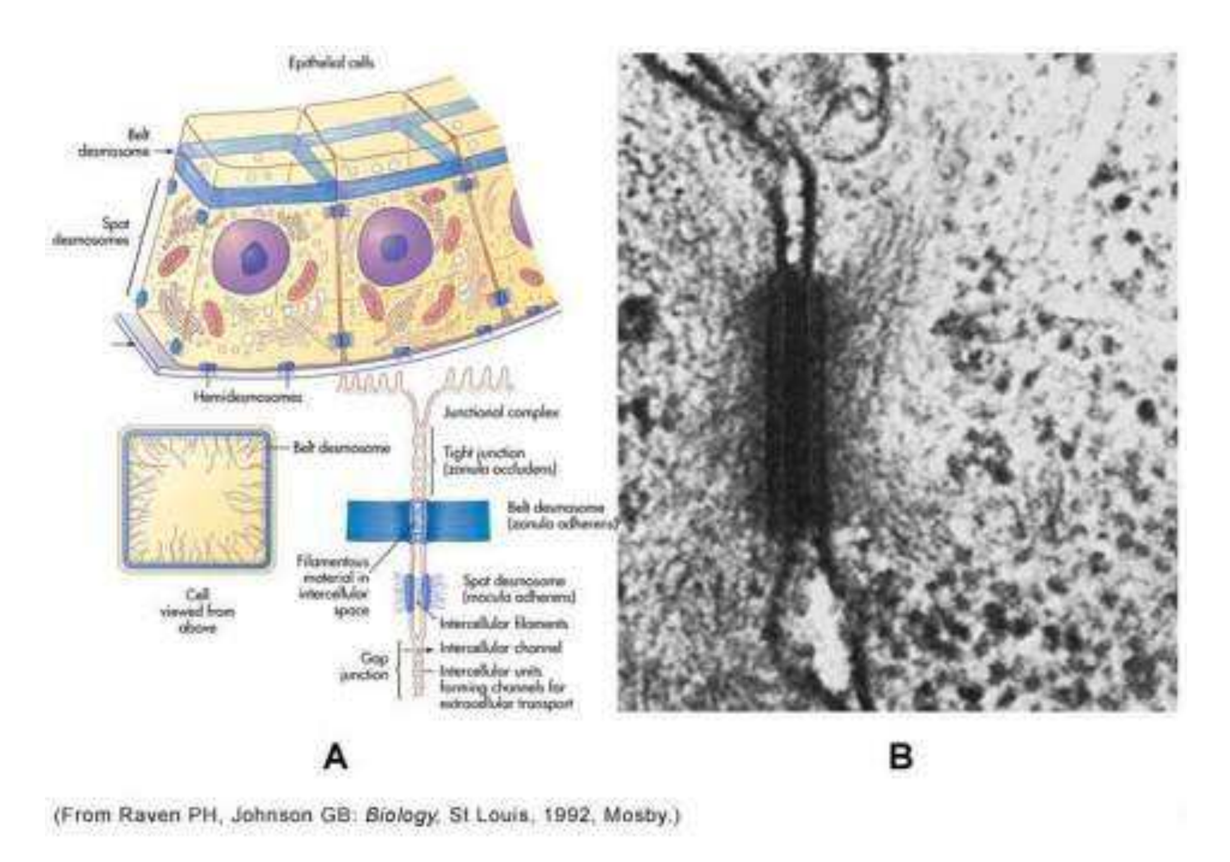
3.3.1. Structure

Ce sont des fibres de 8 à 12 nm d'épaisseur. Elles sont constituées de protéines fibreuses sous forme de monomères qui diffèrent selon le type cellulaire (6 groupes dont par exemple, la kératine). Ils existent en particulier dans les cellules épidermiques (tonofilaments) et les cellules nerveuses (neurofilaments).

Rôle de soutien cytoplasmique, en particulier au niveau des jonctions intercellulaires comme les desmosomes.



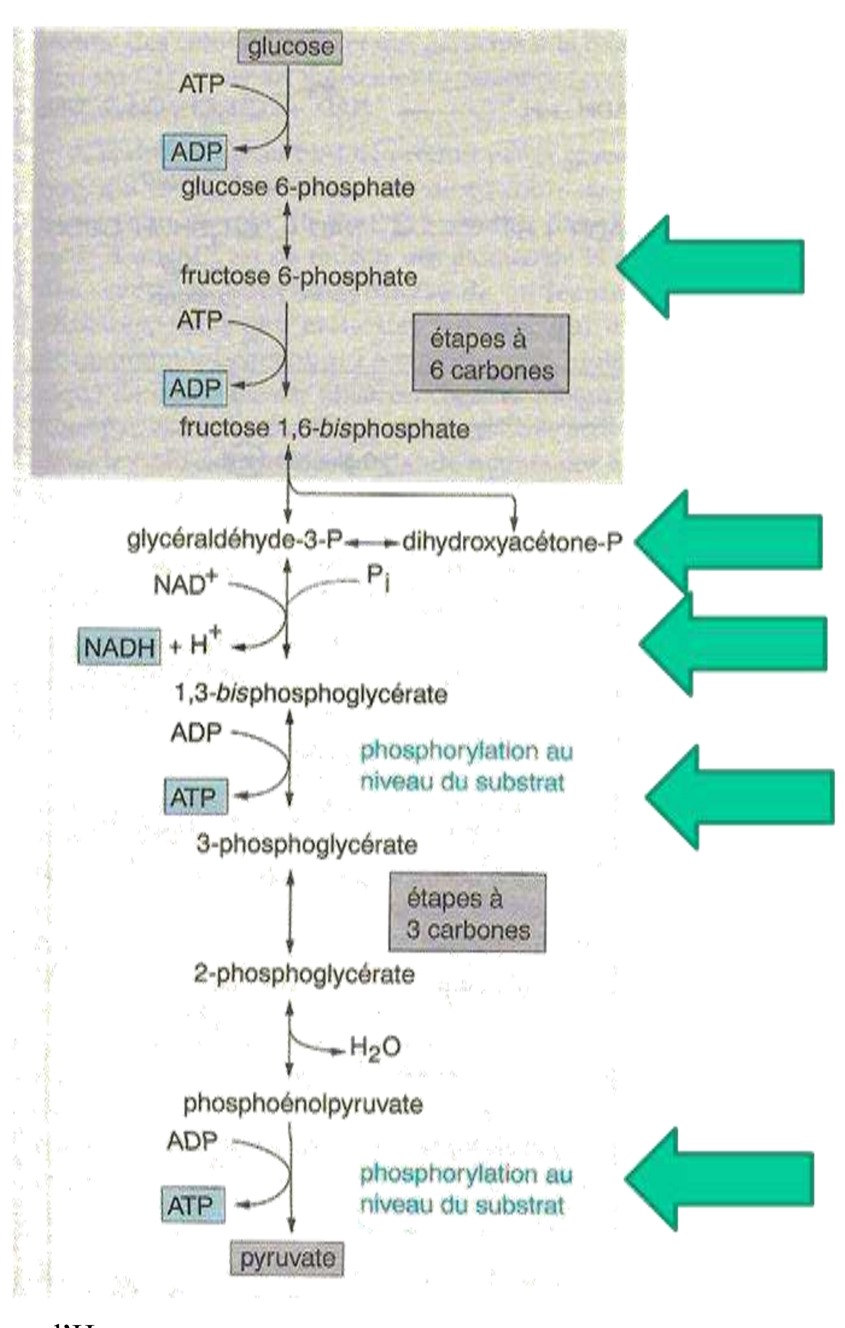
Ces fibres ont un rôle de soutien cytoplasmique, en particulier au niveau des jonctions intercellulaires comme les desmosomes.



(From Raven PH, Johnson GB: *Biology*, St Louis, 1992, Mosby.)

4. Activités métaboliques du hyaloplasme

Le cytosol est un milieu aqueux riche en enzymes et des millions de substrats, ces derniers subissent des modifications en chaîne constituant des voies métaboliques.
Exemple d'une voie métabolique importante: la glycolyse.
C'est la dégradation de glucose-6-P pour former deux molécules d'acide pyruvique.



4.1. Définitions

L' ATP (adénosine-tri-phosphate) est la forme d'énergie directement utilisable par la cellule. Les deux derniers phosphates sont reliés à la molécule par des liaisons riches en énergie. La libération de l'énergie se fait par cette réaction catalysée par l'ATPase :

ATP $\rightarrow$ADP + P + énergie, sous l'action d'une enzyme ATPase.

4.2. Co-enzymes transporteurs d'H_2

Une co-enzyme (molécule non protéique) travaille en collaboration avec une enzyme en effectuant une fonction précise: ici le transport d'H_2.

NAD+, NADP+ (nicotinamide-adénine-dinucléotide (P)): formes oxydées, accepteurs d'H2

NADH,H+, NADPH,H+ : formes réduites, donneurs d'H_2.

4.3. Déroulement de la glycolyse

Cette voie permet la dégradation du glucose pour la formation d'énergie. Elle se déroule comme suit :

Réaction nette:

Glucose + 2 NAD^+ + 2 ADP+ 2 Pi$\rightarrow$ 2 pyruvate + 2 NADH, H^+ + 2 ATP +2 H_2O

Le bilan de la glycolyse est le suivant :

- formation d'énergie sous forme d'ATP (2 molécules)
- formation d'acide pyruvique, substrat de la respiration (2)
- formation de NADH+H+ (réducteur) (2)

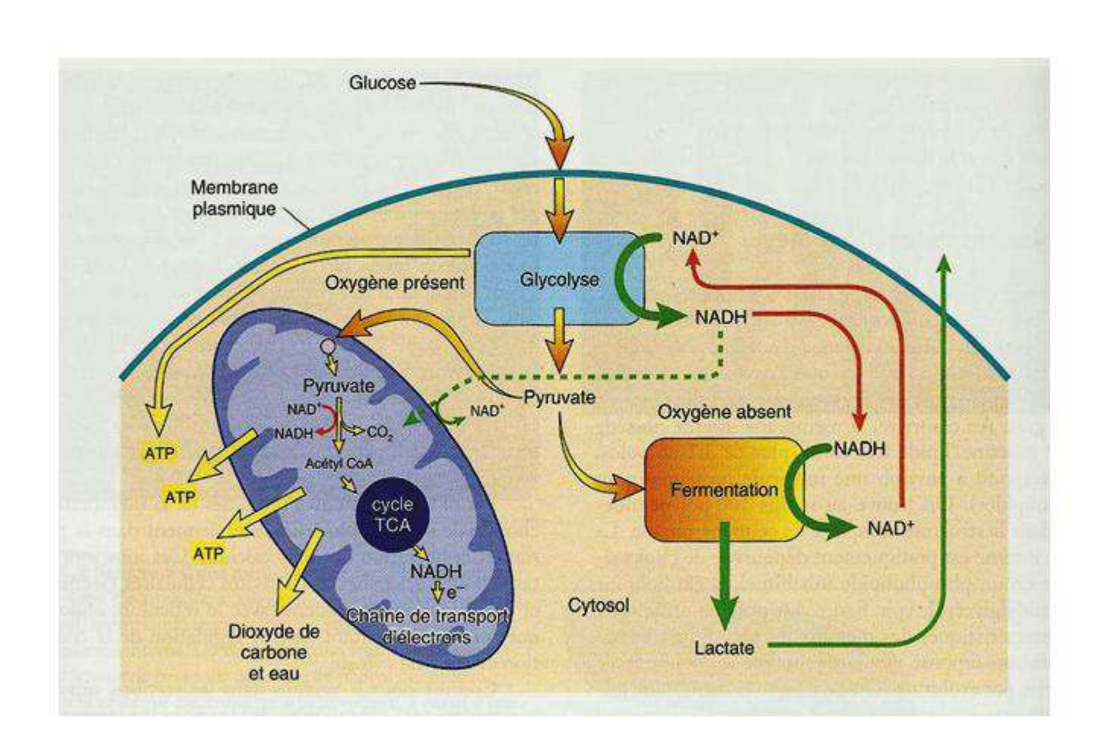
Que deviennent les produits de la glycolyse

....

....

....
....
....
....
....

....
....
....
....
....



Chapitre 5

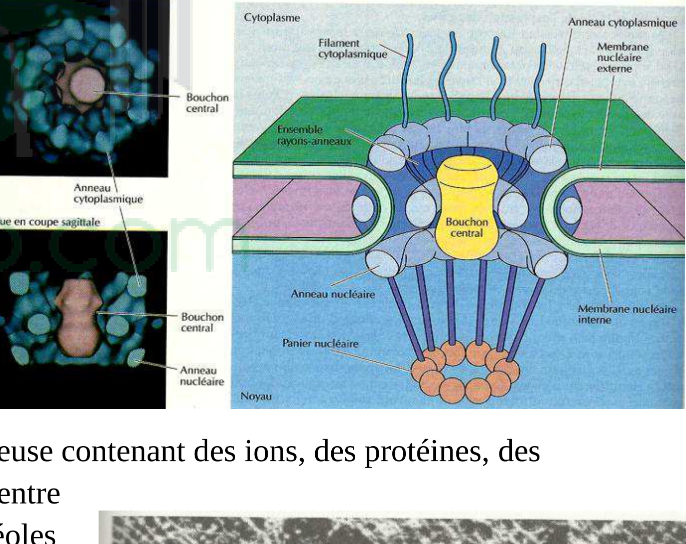
Le noyau

1. Organisation générale du noyau interphasique

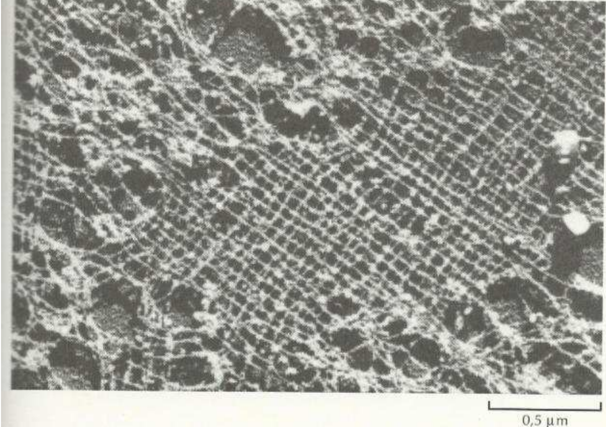
C’est un organite gros, réfringent (renvoie la lumière) et facile à colorer. Sa taille varie selon le type de cellule et son activité. Le rapport nucléoplasmique (volume du noyau divisé par le volume du cytoplasme) renseigne sur l’activité cellulaire.

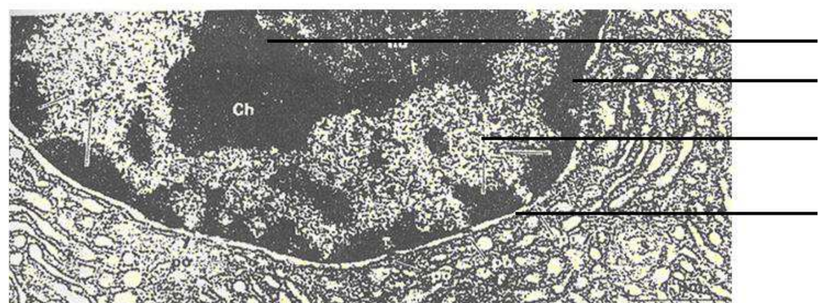
Les principales structures du noyau interphasique sont:

- l’enveloppe nucléaire: c’est une double membrane en continuité avec le réticulum endoplasmique. Elle est interrompue par endroits par des passages appelés pores nucléaires.
Les pores ne sont pas de simples trous. C’est une structure organisée comprenant environ 500 protéines disposées selon une symétrie d’ordre 8. Elle comprend un anneau cytoplasmique lié à des filaments, un anneau intermédiaire et un anneau nucléaire associé à un panier.
Ces pores servent à réguler les échanges entre le cytoplasme et le noyau.
La face interne de l’enveloppe nucléaire est tapissée par une couche protéique filamenteuse de 10 à 20 nm d’épaisseur : **la lamina.** Elle donne au noyau sa forme et sert aussi à reconstituer l’enveloppe nucléaire après la mitose.



- le nucléoplasme: c’est la substance fondamentale du noyau formée par une matrice gélatineuse contenant des ions, des protéines, des enzymes et des nucléotides. Elle assure une continuité entre les divers constituants moléculaires du noyau. les nucléoles
- la chromatine : c’est la forme sous laquelle se présente le matériel génétique pendant l’interphase. Elle comprend une forme très condensée inactive appelée hétérochromatine et une forme lâche et diffuse appelée euchromatine. La structure de la chromatine sera développée dans le prochain paragraphe.

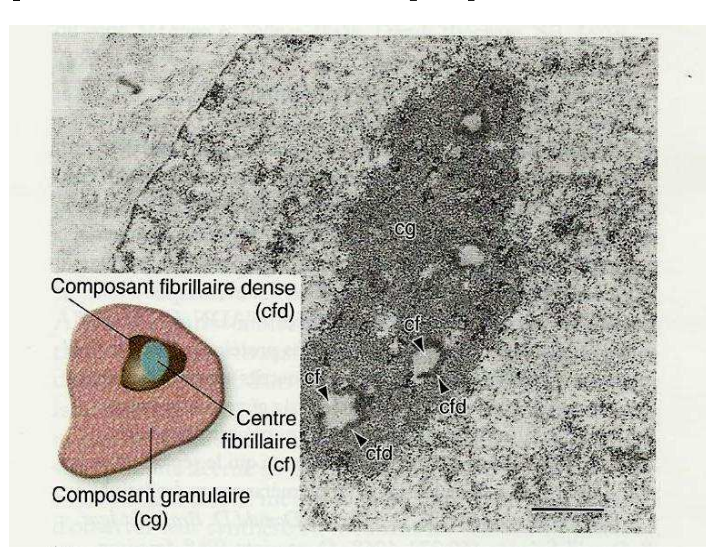




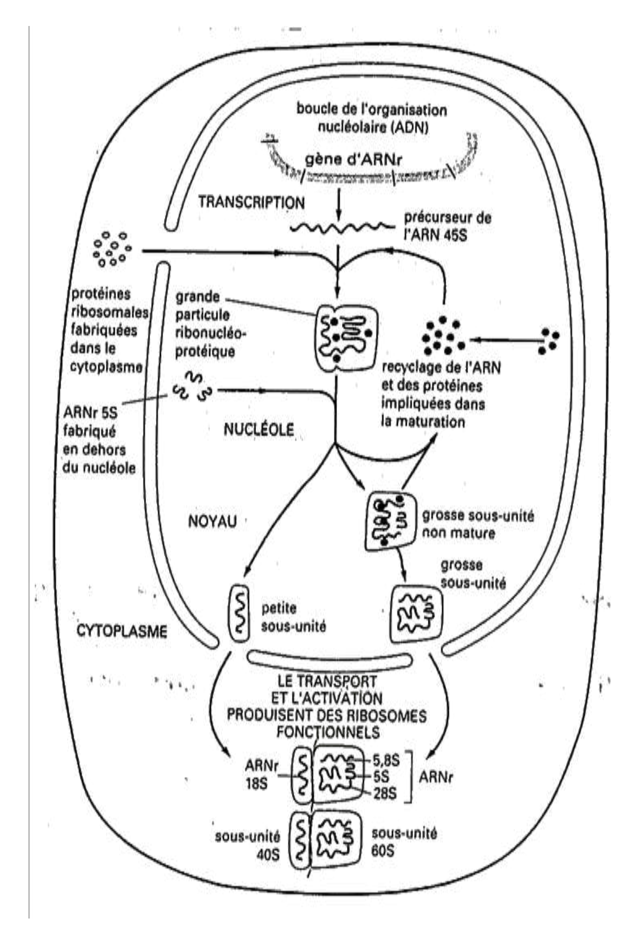
➢ Le nucléole est une structure dense, bien individualisée et de forme sphérique. Il n'est pas entouré d'une membrane lipidique.

Au microscope électronique, le nucléole montre plusieurs structures formées de 3 zones :

- ✓ un centre fibrillaire correspondant aux organisateurs nucléolaires qui expriment les ARNr ;
- ✓ une zone fibrillaire dense qui correspond à la partie active du nucléole contenant les ARN.
- ✓ Une zone granulaire constituée de particules de 15 à 25 nm. C'est la zone de stockage des pré-ribosomes.



Le rôle des nucléoles est la formation des ribosomes.
Les gènes appelés organisateurs nucléolaires réalisent la transcription d'une partie des ARNr qui s'associent avec d'autres ARN et avec des protéines (issues du cytoplasme) pour former les préribosomes qui se sciendent en petite et grosse sous-unité.

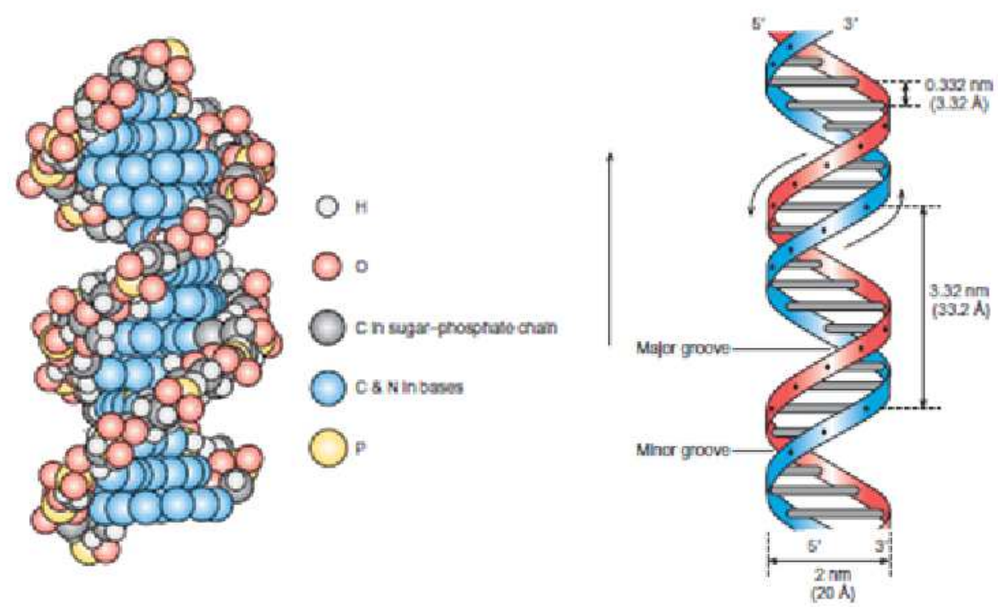


2. Organisation du matériel génétique de la cellule

2.1. Structure de l'ADN

La structure de la molécule d'ADN a été établie en 1953 par Crick et Watson qui ont eu le prix nobel.

C'est une molécule formée de deux longues chaînes de nucléotides (double brin) enroulées en double hélice gauche.



Représentation en bâtonnets, chaque couleur symbolise un nucléotide différent.

Chaque brin est constitué de précurseurs appelés nucléotides.

Chaque nucléotide est constitué d'un acide phosphorique, d'un désoxyribose (sucre) et d'une base azotée.

Il existe quatre types de bases azotées : l'adénine (A), la thymine (T), la guanine (G) et la cytosine (C).

La succession des nucléotides au niveau d'un brin d'ADN varie au sein de la même molécule et entre les molécules de différents individus et différentes espèces : on parle de séquence d'ADN. Cette séquence constitue une information génétique écrite avec un alphabet à 4 lettres.

Les deux chaînes de nucléotides sont reliées au niveau des bases azotées. L'adénine est toujours associée à la thymine (A-T), la cytosine est associée à la guanine (G-C) : on dit que les deux chaînes sont complémentaires.

Les brins sont polarisés il y a une extrémité 3' et une extrémité 5'. Dans une molécule d'ADN, l'extrémité 3' est en face de l'extrémité 5' de l'autre brin : les deux brins sont antiparallèles.

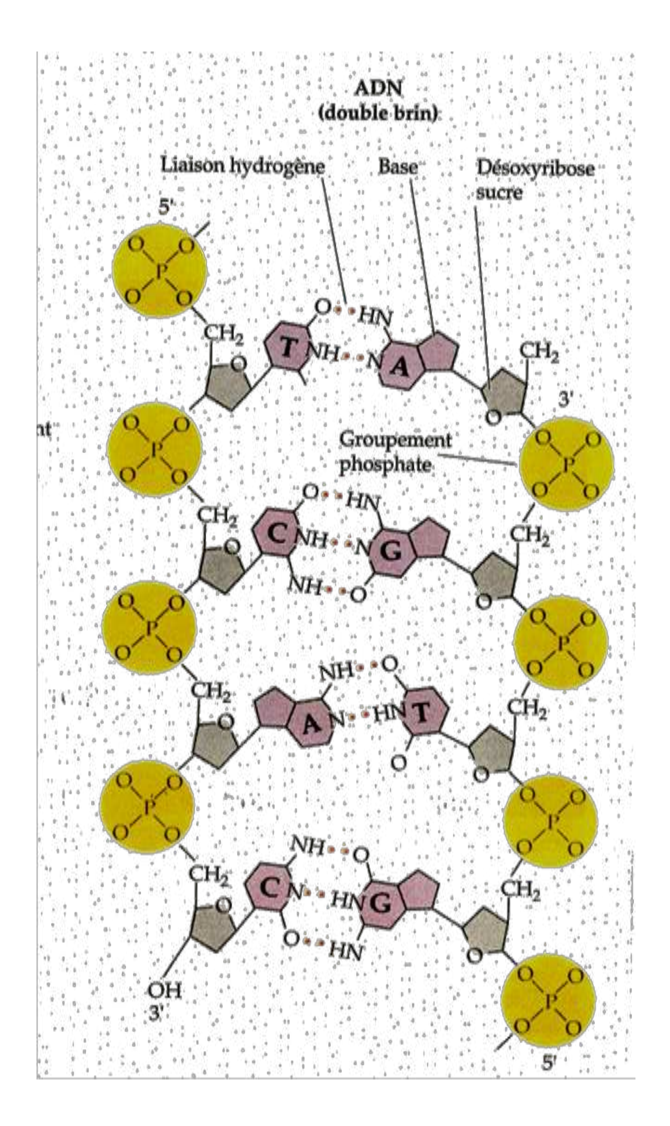
L'ADN d'un individu donné est divisé en différentes parties chacune gouvernant un caractère donné. Ces fragments sont appelés gènes.

Les différentes versions du même gène issues généralement de mutations sont appelées allèles.

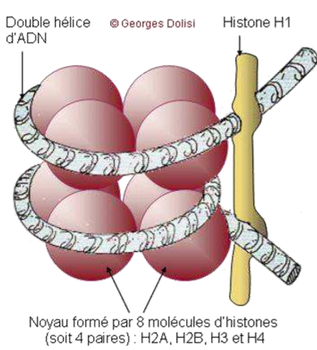
Gène BDH1

Gène ECM1

Gène CNE1



2.2. Organisation du matériel génétique chez les eucaryotes : de la chromatine aux chromosomes



L'ADN des cellules eucaryotes se combine avec des protéines basiques appelées histones pour former des structures appelées nucléosomes. Ces structures contiennent 4 paires de particules protéiques histones (H2A, H2B, H3 et H4) entourées deux fois par le filament d'ADN d'une longueur de 60 paires de base (pB). Entre les nucléosomes, il y a une partie internucléosomique associée à une histone H1. Cette fibre nucléosomique condense l'ADN de 6 à 7 fois.

La fibre nucléosomique se condense par la suite en une fibre plus épaisse dite fibre de 30 nm. Ce mode de condensation divise encore la communauté scientifique. Il existe deux modèles plausibles :

- Le modèle solénoïde : les nucléosomes se condensent en hélice à raison de six par tour et tous parallèles à l'axe de l'hélice. La structure est stabilisée par H1.
- Le modèle en zigzag avec hélice double départ: c'est la succession de petites unités condensées en tetranucléosomes en zigzag.

Il y a des données expérimentales qui semblent suggérer que le modèle solénoïde concerne la chromatine au repos et l'autre concerne la chromatine active.

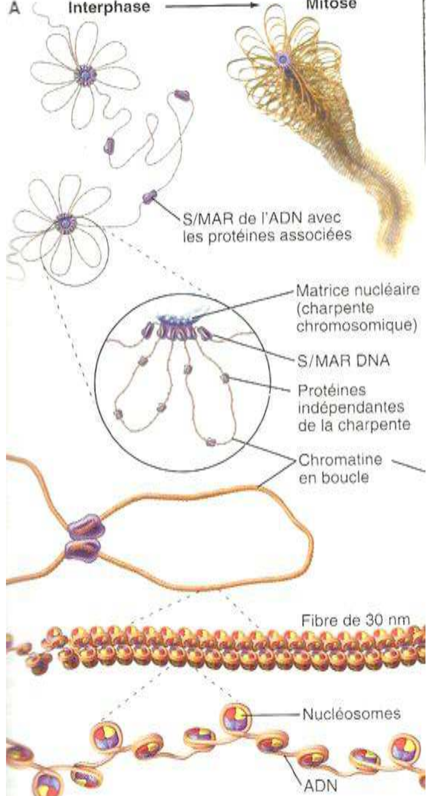
La fibre de 30 nm condense aussi l'ADN de 6 à 7 fois.

La fibre de 30 nm subit des niveaux de condensation supérieurs permettant le passage de l'état de chromatine à la l'état de chromosomique visible pendant des mitoses. Ainsi, la fibre forme d'abord des boucles appelées microconvules. Ces boucles condensent encore l'ADN d'environ 10 fois.

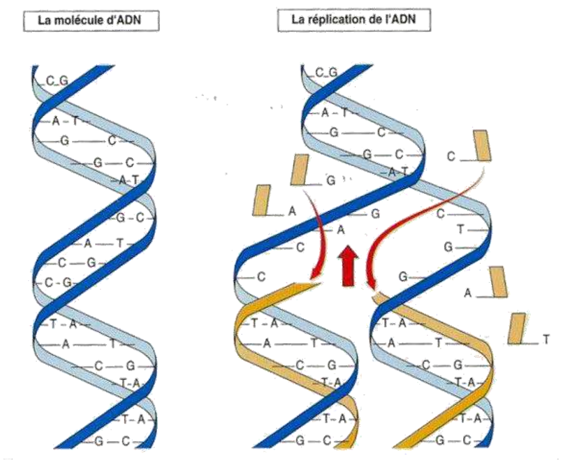


Le passage ultime de la chromatine condensée au chromosome se fait par le regroupement des boucles en rosettes et leur ancrage à une charpente centrale du chromosome formée de protéines non histones. Cette étape permet de condenser l'ADN d'environ 20 fois.

Ce processus permet de passer d'une longueur totale de 1,90 m pour l'ADN humain à une longueur de 220 µm correspondant à la longueur totale des chromosomes. C'est une condensation d'environ 8000 fois.



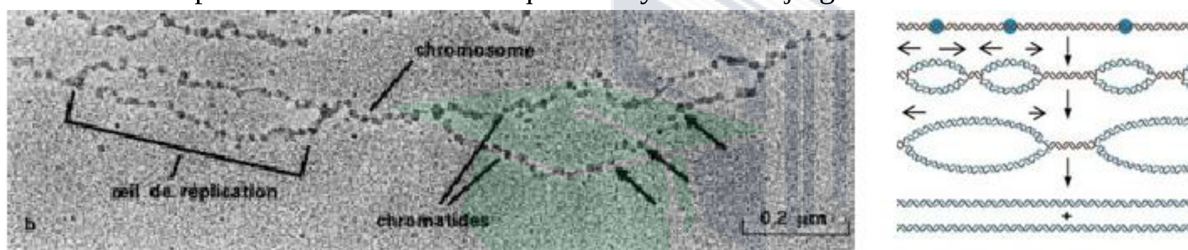
3. Transmission de l’information génétique : mitose et méiose



Le matériel génétique est un ensemble d’instructions qui doivent être transmises à la descendance. Cette transmission nécessite d’abord la création de copies supplémentaires pour que les cellules disposent chacune de sa copie. On appelle ce processus la réplication.

3.1. Réplication de l’ADN

La réplication s’effectue par l'ADN polymérase qui écarte progressivement les deux brins de la molécule d'ADN (yeux de réplication) et permet à des nucléotides libres, présents dans le noyau de se fixer chacun en face de la base azotée du nucléotide qui lui est complémentaire. Ainsi, chaque brin d’ADN sert de matrice pour la synthèse d’un nouveau brin.
La réplication débute à divers endroits de la molécule et progresse en sens inverse, formant des «yeux de réplication ». La réplication est achevée lorsque les « yeux» se rejoignent.



Chaque nouvelle molécule comprend un brin nouveau et un brin ancien : **la réplication est semi-conservative.**

3.2. Le déroulement de la mitose

La mitose est un processus continu, mais on peut y distinguer 5 étapes difficiles à délimiter.

3.2.1. Prophase

Les chromosomes commencent à se condenser s’individualiser. L’enveloppe nucléaire et le nucléole disparaissent. Un fuseau achromatique, constitué de microtubules apparaît entre les deux pôles.

3.2.2. La métaphase

Les chromosomes, au maximum de leur condensation, se positionnent à l'équateur du fuseau pour former « plaque équatoriale ».

3.2.3. L'anaphase

Le fuseau tire sur les deux chromatides qui se séparent et migrent vers les pôles de la cellule.

3.2.4. La télophase

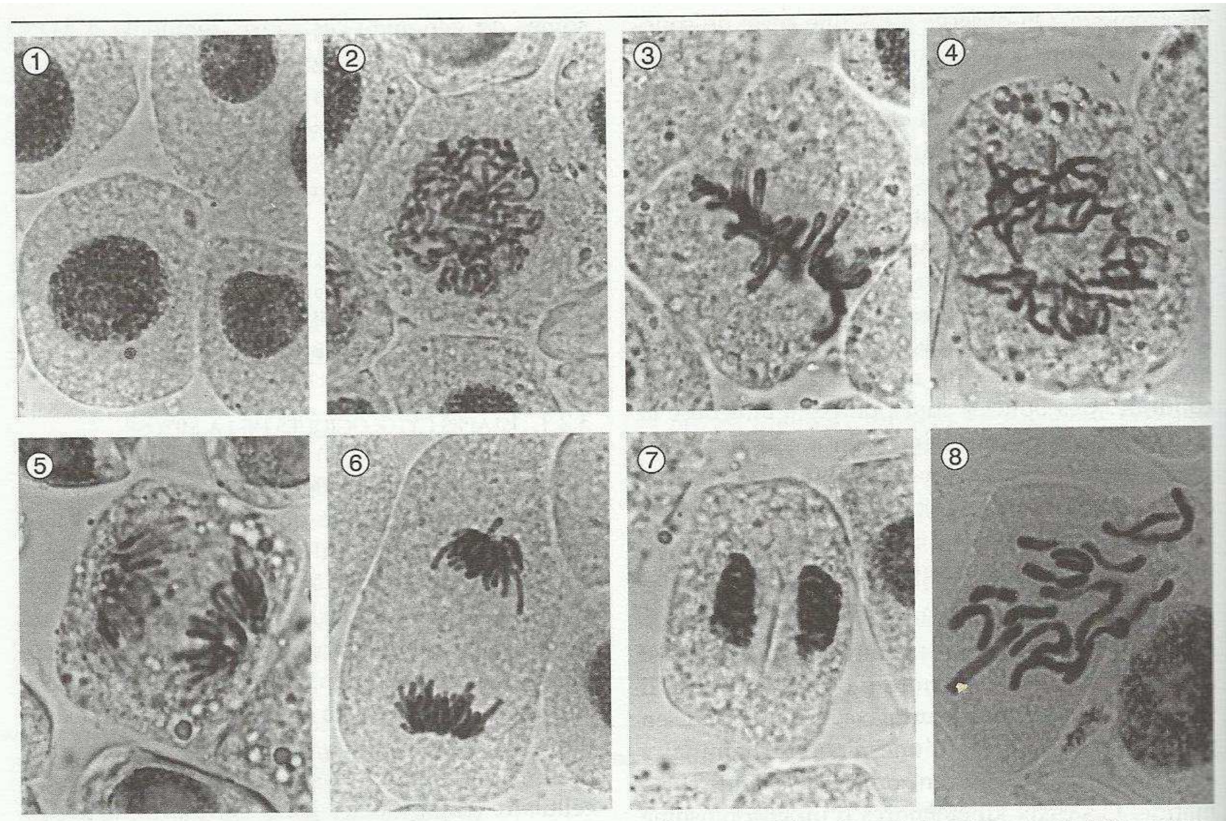
Les chromatides se disposent en deux lots polaires et commencent à se décondenser, l'enveloppe nucléaire se forme autour de chaque lot de chromosomes et achève ainsi la formation des deux noyaux fils, le fuseau mitotique disparaît.

3.2.5. Cytodiérèse

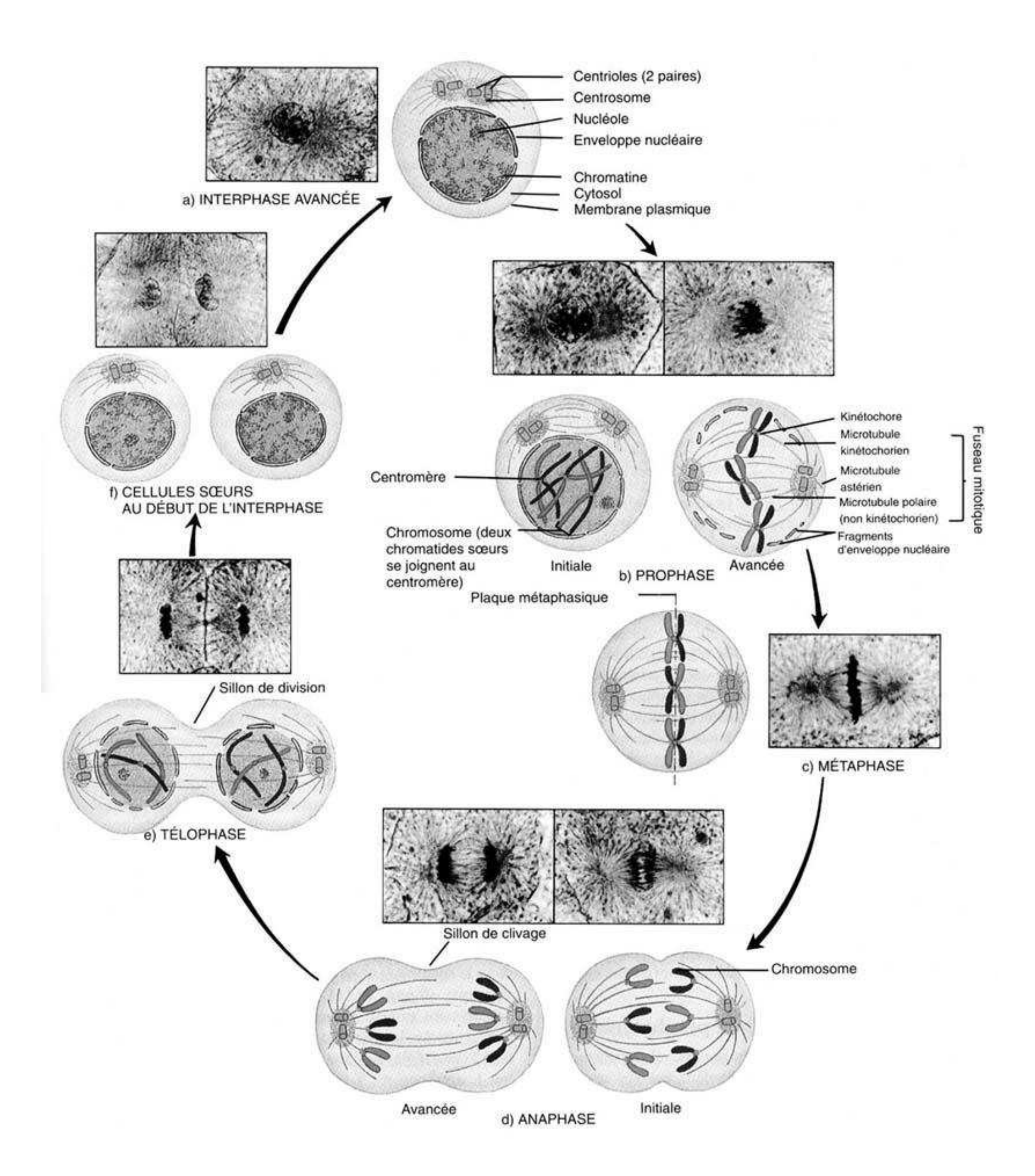
C’est le partage du cytoplasme aboutissant à la séparation finale des deux cellules filles.

Chez les animaux, la cytodiérèse s'effectue par un simple étranglement du cytoplasme dans la région équatoriale de la cellule.

chez les végétaux, cette séparation est plus complexe et fait intervenir des vésicules golgiennes chargées en substances pariétales qui se disposent à l’équateur de la cellule pour former une paroi au moment où le membranes qui les entourent constituent les nouvelles membranes.

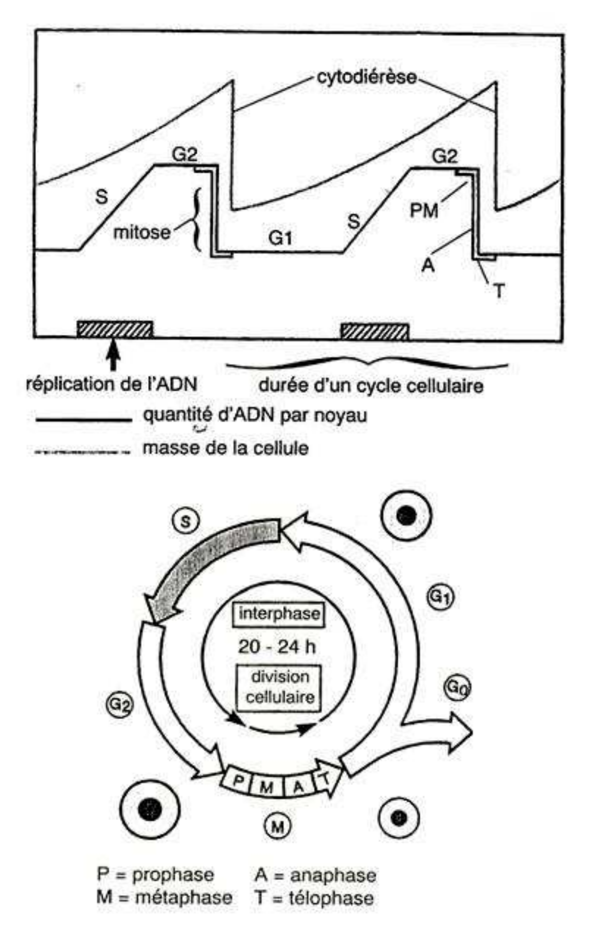


1. Interphase - **2.** Prophase - **3** et **4.** Métaphases en vue latérale et polaire - **5** et **6.** Anaphases - **7.** Télophase - **8.** Stock chromosomique de *Allium cepa*.


Centrioles (2 paires)
Centrosome
Nucléole
Enveloppe nucléaire
Chromatine
Cytosol
Membrane plasmique
a) INTERPHASE AVANCÉE
Centromère
Chromosome (deux chromatides sœurs se joignent au centromère)
Initiale
b) PROPHASE
Avancée
Kinétochore
Microtubule kinétochorien
Microtubule astérien
Microtubule polaire (non kinétochorien)
Fuseau mitotique
Fragments d'enveloppe nucléaire
Plaque métaphasique
c) MÉTAPHASE
Chromosome
Sillon de clivage
Avancée
d) ANAPHASE
Initiale
e) TÉLOPHASE
Sillon de division
f) CELLULES SŒURS AU DÉBUT DE L'INTERPHASE

3.3. Mitose et cycle cellulaire

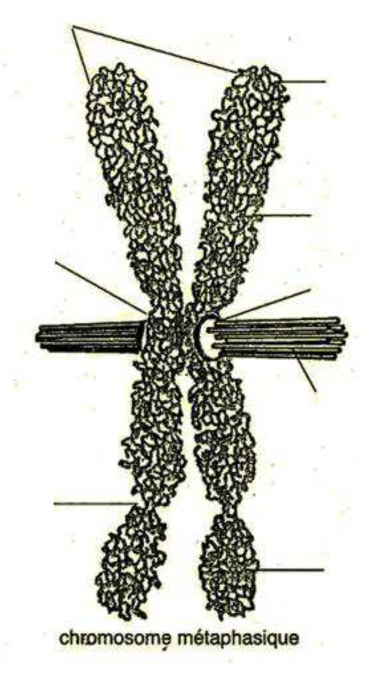
Les cellules qui se divisent régulièrement présentent un ensemble d'activités structurales et métaboliques qui leur permettent de préparer et de réaliser la mitose. Ces transformations qui se succèdent de manière répétitive sont appelées cycle cellulaire. Sa durée est, en général entre 20 et 24 h.



Les étapes du cycle cellulaire peuvent être aisément suivies à travers l'estimation de la quantité d'ADN cellulaire à un moment donné.

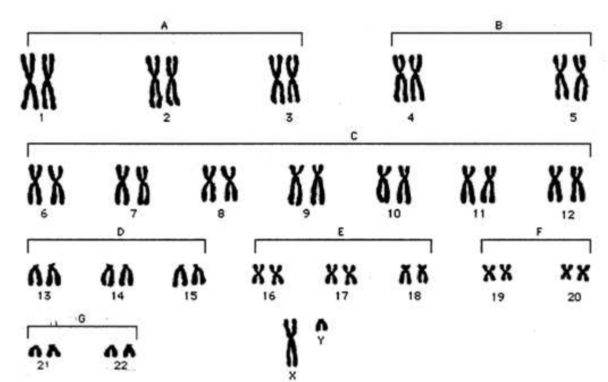
- Phase G1 (environ 8h) : période qui suit la mitose et se caractérise par une quantité minimale d'ADN et des synthèses actives permettant la croissance cellulaire.
- Phase S (environ 8h) : période de réplication de l'ADN en 2 chromatides attestée par une augmentation progressive vers le doublement de la quantité d'ADN.
- Phase G2: (environ 8h) : les cellules contiennent une quantité d'ADN double avec production d'enzymes et de facteurs de régulation indispensables à la mitose. La fin de cette phase G2 est marquée par la phosphorylation de nombreuses protéines.
- Phase M (1 à 2 h): période de division proprement dite et de partage égal du matériel héréditaire entre les 2 cellules filles issues d'une division.

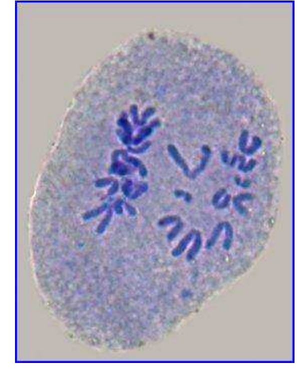
3.4. Chromosome métaphasique et caryotype



Pendant la métaphase, les chromosomes atteignent leur condensation maximale et sont disposés sur un seul plan (plaque équatoriale). Leur visibilité est maximale à ce stade et apparaissent dédoublés en deux chromatides. Ils présentent un certain nombre de caractéristiques structurales :

- Le centromère ou constriction primaire : étranglements présents au niveau de tous les chromosomes. C'est le dernier point de contact entre les chromatides avant leur séparation. Il comprend un complexe de microtubules appelé chinétochore.
- La constriction secondaire : étranglements présents sur certains chromosomes qui correspondent à l'emplacement habituel des organisateurs nucléolaires au repos pendant la mitose.
- Les télomères : Ce sont des séquences d'ADN particulières formées de nombreuses répétitions de courtes séquences (GGGTA chez l'Homme) et situées aux extrémités des chromosomes. Elles sont impliquées dans la stabilisation et la protection des extrémités chromosomiques. Leur longueur se raccourcit après chaque division ce qui laisse penser qu'ils jouent un rôle de mesure du temps comme un sablier).





A partir de l'observation de la plaque métaphasique, on peut reproduire les chromosomes et les présenter de manière organisée : c'est le caryotype.

L'examen du caryotype montre que le nombre et la morphologie des chromosomes sont stables chez une espèce donnée (2n = 46 chez l'Homme) et tous les chromosomes sont présents par paires : on parle de chromosomes homologues.

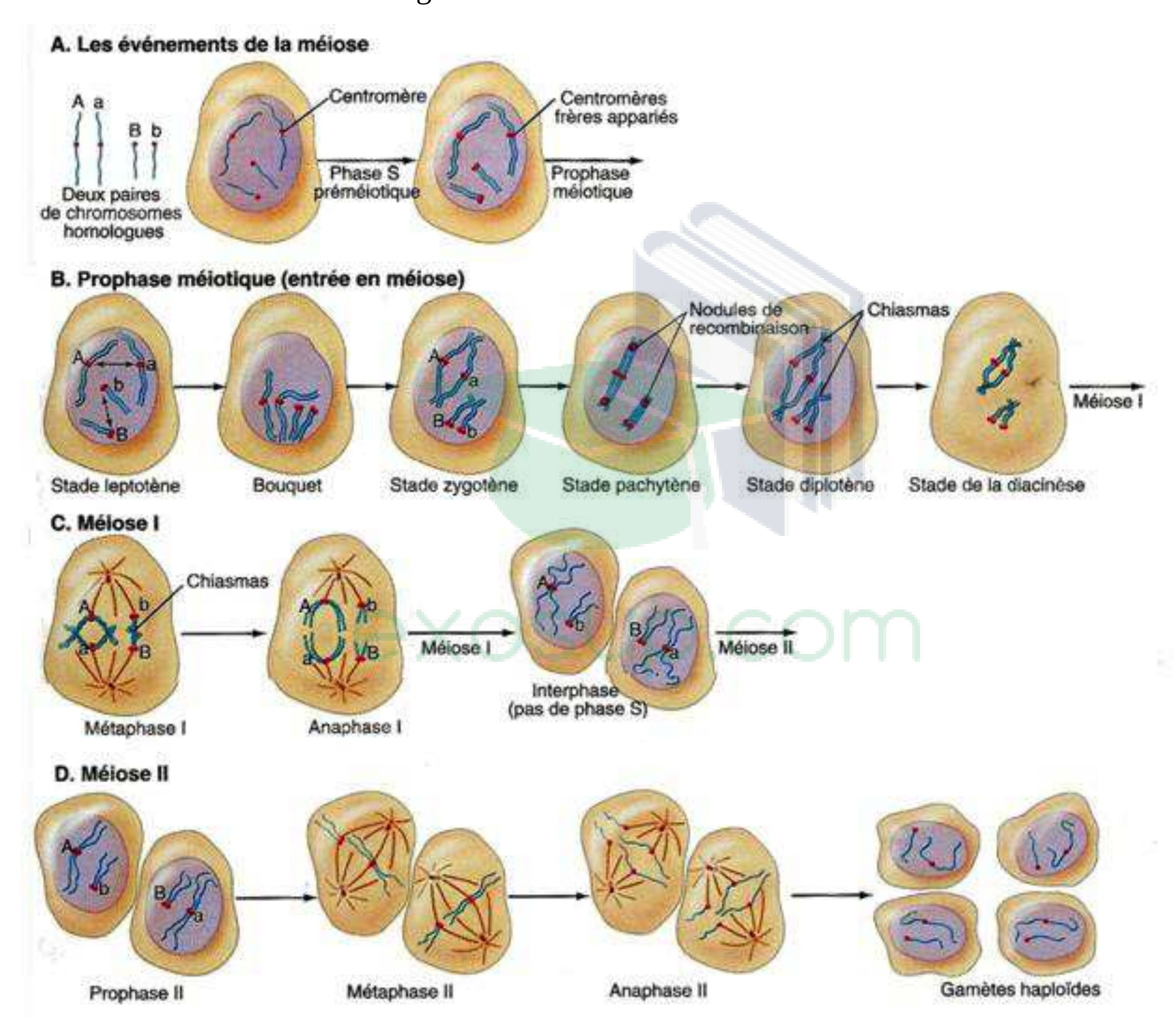
Selon la position du centromère, on distingue 3 types de chromosomes:

- Les chromosomes acrocentriques: le centromère divise le chromosome. en 2 bras inégaux.
- Les chromosomes métacentriques: le centromère divise le chromosome en 2 bras égaux.
- Les chromosomes télocentriques: le centromère est en position terminale.

3.5. La méiose

La méiose est une division complexe qui se déroule dans les cellules de la lignée germinale (cellules mères des gamètes).

Les cellules somatiques comprennent, en général, des chromosomes par paires ou chromosomes homologues. L'Homme, par exemple, possède 23 paires de chromosomes (2n = 46). On dit que les cellules somatiques sont diploïdes. Par contre, les gamètes (spermatozoïdes et ovules chez l'Homme) doivent posséder uniquement 23 chromosomes, on dit qu'elles sont haploïdes. L'état diploïde est restauré lors de la fusion entre les gamètes mâles et femelles ou fécondation.



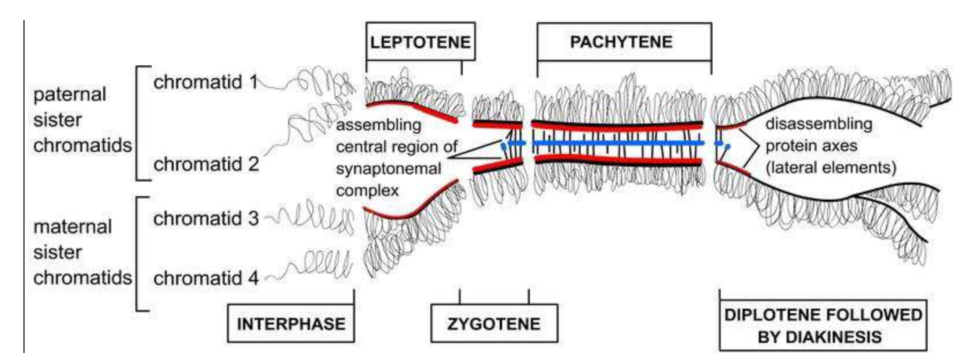
La méiose comprend 2 étapes:

- Une première division réductionnelle pendant laquelle le nombre de chromosomes est réduit de moitié
- Une deuxième division dite équationnelle qui ressemble étroitement à la mitose.

Chacune de ces divisions comprend plusieurs étapes et sous étapes :

Prophase I: c'est une phase à la fois importante et complexe. Elle est subdivisée en 5 étapes.

- Leptotène : c'est le début de condensation des chromosomes qui commencent à s'individualiser.
- Zygotène : les chromosomes homologues s'apparient c'est-à-dire se rapprochent par un processus appelé synapsis aboutissant à la formation du complexe synaptonémal. Ils se croisent à certains endroits formant des chiasmas.



- Pachytène : les chromosomes continuent leur condensation formant des tétrades.
- Diplotène : les chromosomes s'écartent légèrement et restent attachés au niveau des chiasmas.
- Diacinèse : les chromatides sont fortement contractés et commencent à rejoindre l'équateur de la cellule.

Métaphase I : les bivalents se disposent en plaques équatoriales avec formation du fuseau achromatique et disparition de la membrane nucléaire et des nucléoles.

Anaphase I : les chromosomes homologues se séparent et migrent vers les pôles. La rupture des chiasmas aboutit à l'échange de morceaux de chromosomes entre les chromosomes homologues.

Télophase I : formation de noyaux fils haploïdes.

Prophase 2: Disparition de l'enveloppe nucléaire et Formation du fuseau achromatique.

Métaphase 2: Les chromatides se placent au centre de la plaque équatoriale.

Anaphase 2 : séparation des chromatides qui migrent vers les pôles opposés.

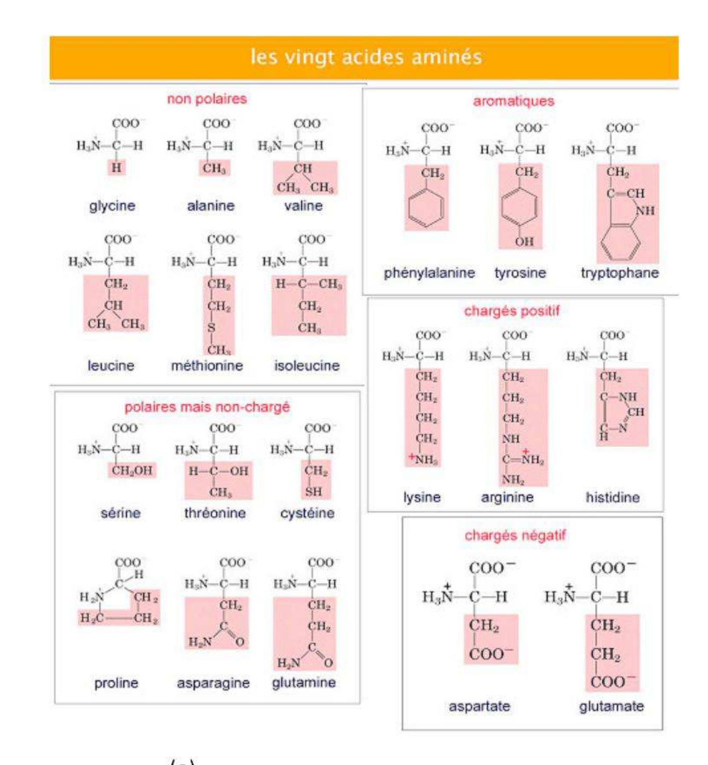
Télophase 2 E: Formation de 4 cellules haploïdes résultant des 2 divisions chromatiques.

Conséquences de la méiose :

- Formation de cellules gamétiques haploïdes.
- Répartition indépendante des chromosomes d'origine paternelle et maternelle : brassage interchromosomique.
- Echange de fragments de chromosomes ce qui modifie l'ordre des allèles sur le chromosome : brassage intrachromosomique.

4. Expression de l'information génétique: synthèse de protéines

4.1. Rappel de la structure des protéines



Une protéine est un ensemble d'acides aminés reliés entre eux par une liaison peptidique entre la fonction COOH d'un acide aminé et L fonction NH_2 de l'acide aminé suivant. Les protéines diffèrent à la fois par le nombre d'acides aminés et par leur enchainement ou leur séquence.

Dans une protéine, on peut trouver plusieurs chaines peptidiques. La protéine peut aussi comprendre une partie non peptidique.

Il a été prouvé par l'étude de mutants qu'il y a une colinéarité entre la séquence du gène et la séquence de la protéine. L'information portée par le gène (ADN) consiste en une séquence précise de nucléotides qui indique l'enchainement des acides aminés au niveau de la protéine.

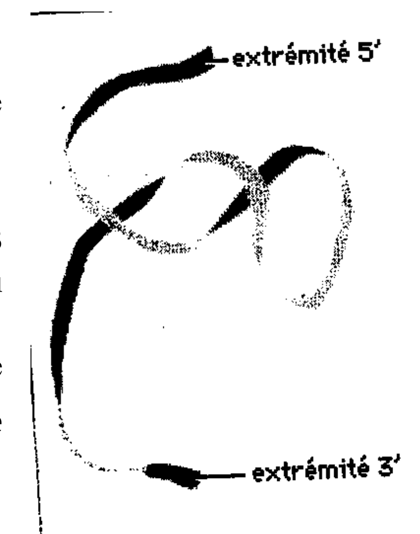
4.2. Structure des ARN

L'ARN se distingue de l'ADN par 3 caractéristiques : simple brin, porte l'uracile au lieu de la thymine et le ribose à la place du désoxyribose.

Il y a 3 types d'ARN :

- L'ARN message : simple brin linéaire
- L'ARN ribosomal.
- L'ARN de transfert replié en forme de trèfle et portant un acide aminé et un triplet caractéristique l'anti-codon

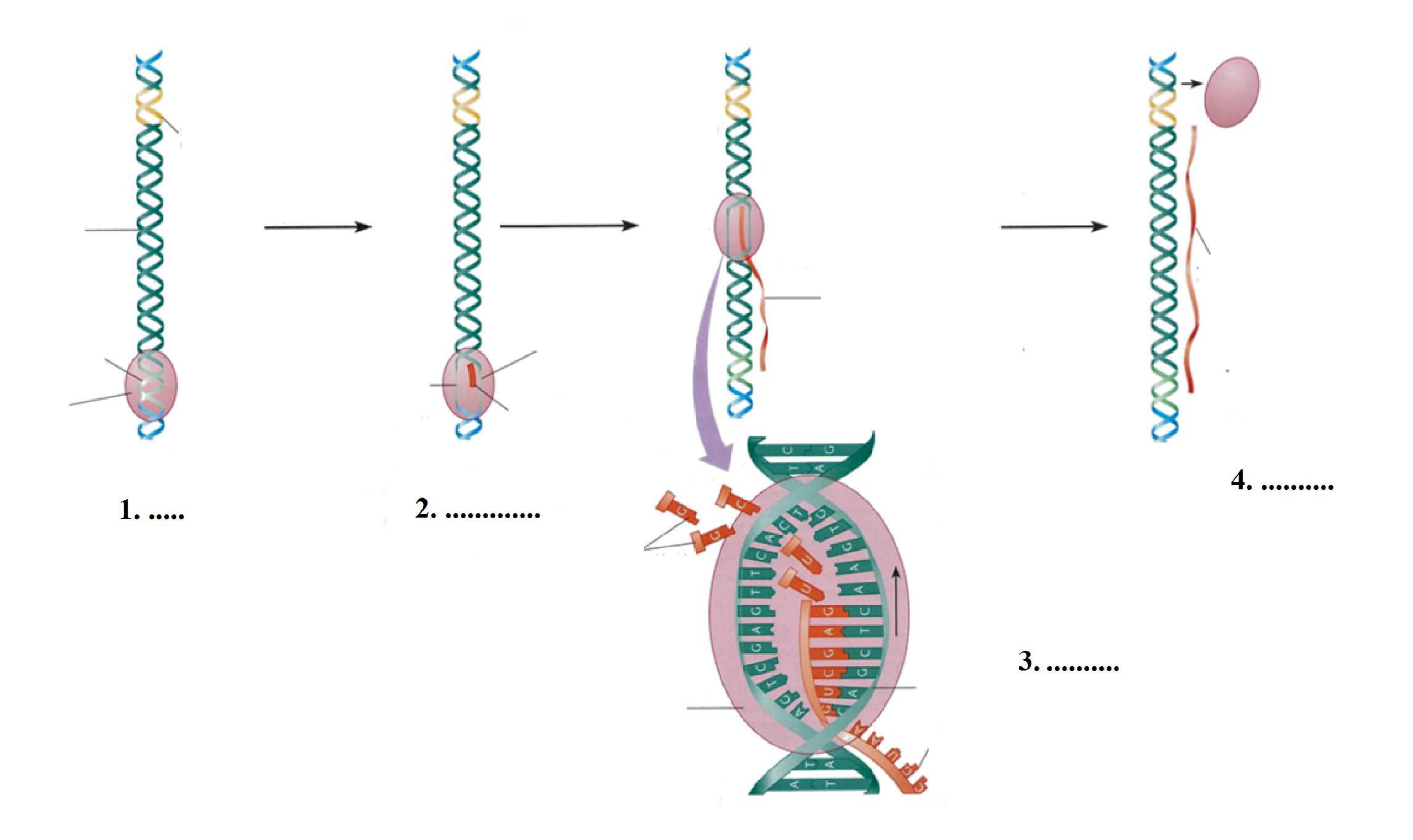
4.3. La transcription de l'ADN en ARN



La synthèse débute par la synthèse d'une copie du gène sous forme d'une molécule d'ARN appelé ARN messager.

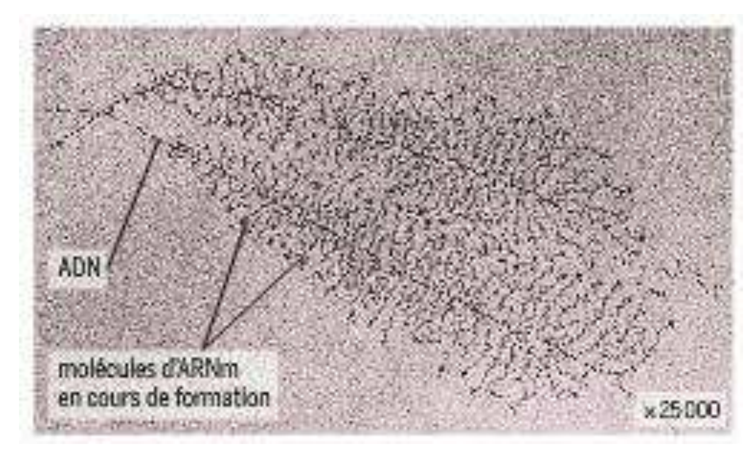
Les ARN sont des acides nucléiques comme l'ADN mais ils diffèrent par 3 caractéristiques: ils ont un seul brin, possèdent le ribose au lieu du désoxyribose. La thymine est remplacée par l'uracile.

ARN messager est synthétisé par complémentarité avec l'un des brins de l'ADN utilisé comme matrice. Ce processus est appelé transcription. Le schéma suivant résume ses principales étapes :


1. .....
2. ....
3. ....
4. ....

L'ARNm obtenu a une séquence complémentaire par rapport au brin d'ADN transcrit et identique par rapport au brin non transcrit à part T qui est remplacé par U.

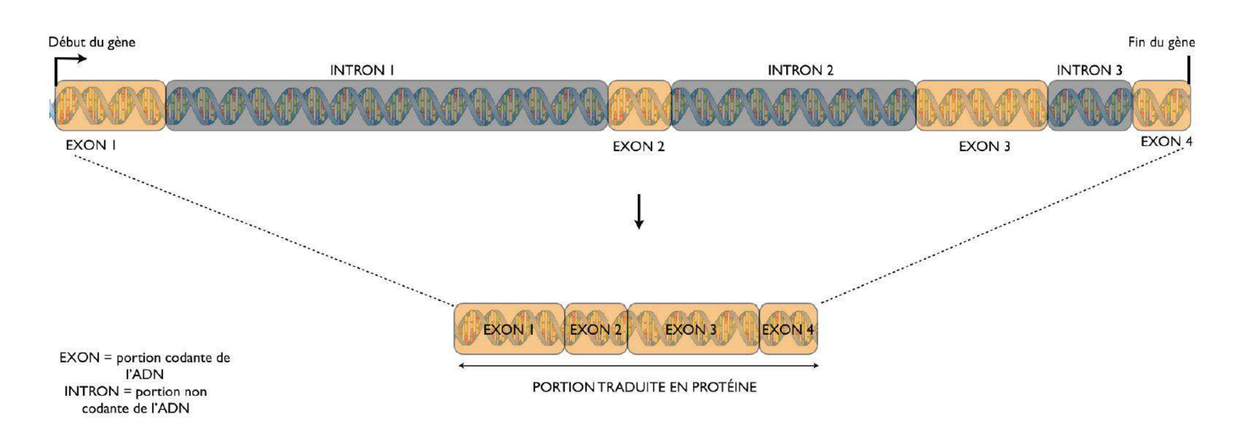
Un même gène est transcrit simultanément en plusieurs ARNm. Les ARNm synthétisés se détachent de l'ADN et migrent dans le cytoplasme par les pores de l'enveloppe nucléaire.



L'ARNm est une copie éphémère du gène (durée de vie de quelques minutes).

Chez les procaryotes, la transcription permet de former directement un ARN messager immédiatement utilisable pour l'étape suivante. Par contre, chez les eucaryotes, la transcription forme un ARN dit prémessager. Cet ARN comprend des tronçons qui persisteront dans le futur ARNm, ce sont les exons et des tronçons qui seront éliminés appelés introns.

Lors d'un processus appelé épissage, les introns sont coupés et éliminés et les exons sont raccordés entre eux pour former l'ARN messager.



Un même ARN prémessager peut subir un épissage différent suivant plusieurs facteurs comme le type de cellule ou le moment de la transcription. Certains exons peuvent ou non être retenus. La conséquence est qu'un même gène peut donner plusieurs protéines différentes. De ce fait, la diversité des protéines (protéome) d'un organisme donné dépasse largement le nombre de ses gènes: on parle d'épissage alternatif.

La tropomyosine est un des constituants du cytosquelette (ensemble de filaments qui donnent leur forme aux cellules).
L'image ci-contre montre des fibres constituées de tropomyosine.
Toutes les cellules (fibres musculaires, neurones, etc.) n'ont pas la même tropomyosine. Ainsi, il existe au moins neuf formes de tropomyosine alpha. Ces neuf protéines différentes sont pourtant le résultat de l'expression d'un seul gène.
Ce gène est constitué de 15 exons dont 5 sont présents dans toutes les formes de la tropomyosine. Les autres exons sont éliminés ou bien retenus alternativement au cours de l'épissage.

ARN pré-messager - Tropomyosine alpha
muscle strié
ARNm TM
ARNm TM
cerveau
ARNm TM
ARNm TM
muscle lisse
ARNm TM
ARNm TM
ARNm TM
fibroblaste
ARNm TM
ARNm TM

Fibres du cytosquelette constituées de molécules de tropomyosine

4.4. La traduction

La traduction est la synthèse de chaînes peptidiques au niveau du cytoplasme selon le message porté par l'ARNm issu de la transcription.

4.4.1. Le système de correspondance : code génétique

La relation entre séquence de nucléotides et la séquence d'acides nécessite un système de correspondance entre les deux langages.

Il n'est pas possible de faire correspondre un nucléotide avec un acide aminé parce qu'il n'y a que

1er nucléotide	2e nucléotide U		2e nucléotide C		2e nucléotide A		2e nucléotide G		3e nucléotide
U	UUU	phénylalanine	UCU	sérine	UAU	tyrosine	UGU	cystéine	U
U	UUC	phénylalanine	UCC	sérine	UAC	tyrosine	UGC	cystéine	C
U	UUA	leucine	UCA	sérine	UAA	codon(s) stop	UGA	codon(s) stop	A
U	UUG	leucine	UCG	sérine	UAG	codon(s) stop	UGG	tryptophane	G
C	CUU	leucine	CCU	proline	CAU	histidine	CGU	arginine	U
C	CUC	leucine	CCC	proline	CAC	histidine	CGC	arginine	C
C	CUA	leucine	CCA	proline	CAA	glutamine	CGA	arginine	A
C	CUG	leucine	CCG	proline	CAG	glutamine	CGG	arginine	G
A	AUU	isoleucine	ACU	thréonine	AAU	asparagine	AGU	sérine	U
A	AUC	isoleucine	ACC	thréonine	AAC	asparagine	AGC	sérine	C
A	AUA	isoleucine	ACA	thréonine	AAA	lysine	AGA	arginine	A
A	AUG	méthionine	ACG	thréonine	AAG	lysine	AGG	arginine	G
G	GUU	valine	GCU	alanine	GAU	acide aspartique	GGU	glycine	U
G	GUC	valine	GCC	alanine	GAC	acide aspartique	GGC	glycine	C
G	GUA	valine	GCA	alanine	GAA	acide glutamique	GGA	glycine	A
G	GUG	valine	GCG	alanine	GAG	acide glutamique	GGG	glycine	G

quatre nucléotides pour 20 acides aminés. La correspondance entre un doublet de nucléotides avec un seul acide aminé n'est pas non plus possible du moment qu'il n'existe que 4^2 = 16 doublets possibles

Il faut donc trois nucléotides pour désigner les 20 acides aminés. Le problème est qu'il existe 4^3 = 64 triplets possibles. Donc, la plupart des acides aminés sont codés par plusieurs triplets ou codons.

Ce système de correspondance entre triplets nucléotidiques et acides aminés est appelé: code génétique.

Le code génétique présente les caractéristiques suivantes :

- Il est redondant (ou dégénéré) : certains acides aminés sont codés par plusieurs codons.
- Il est univoque : chaque codon ne code que pour un seul acide aminé.
- Il est universel : le code génétique est le même pour tous les êtres vivants (animaux, végétaux et bactéries). Cette universalité est en faveur d'une origine commune à toutes les espèces.

Il existe mathématiquement 64 triplets de nucléotides différents. Parmi les 64 codons possibles dont trois codons ne correspondent à aucun acide aminé : ce sont des codons STOP.

La traduction se fait au niveau de petits organites cytoplasmiques appelés ribosomes. Ce sont des particules formées de deux sous unités: la grande et la petite. Ces ribosomes parcourent l'ARNm triplet par triplet et chaque triplet fait appel à un acide aminé.



4.4.2. Les ribosomes

Organites hyaloplasmiques de taille voisine de 20 nm. Décrits pour la 1ère fois en 1950 sous le nom de grains de Palade (du nom de Georges Palade qui les a découverts). Ils sont soit libres, soit accolés aux membranes du réticulum endoplasmique.

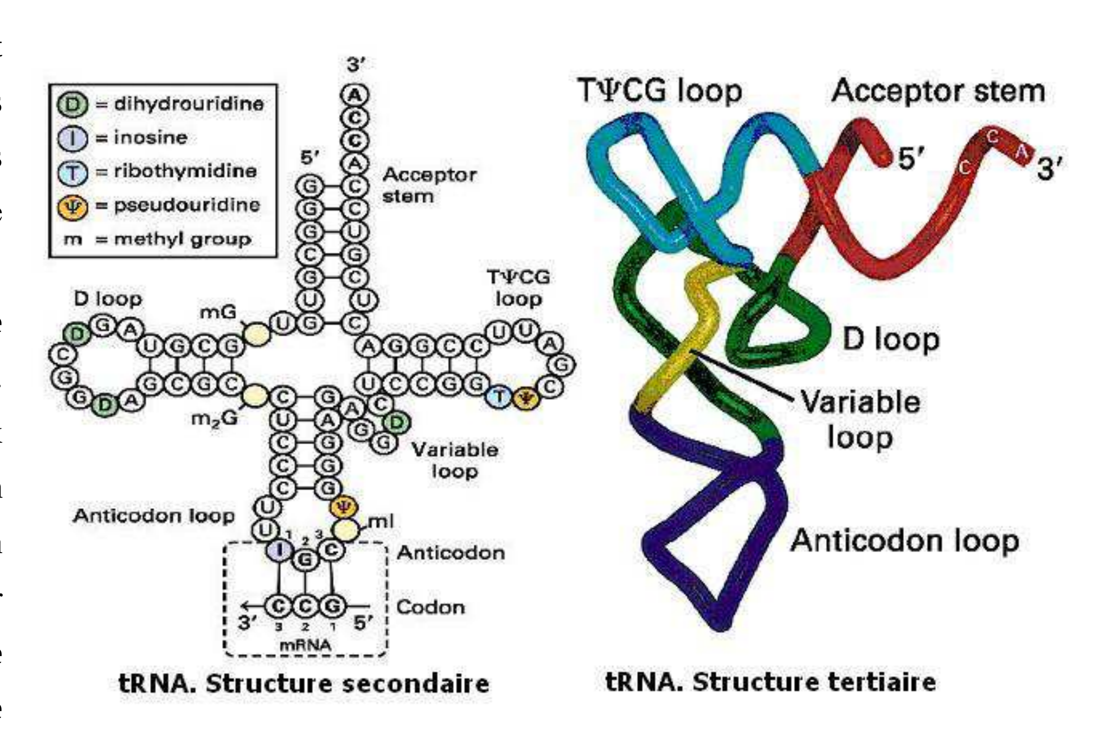


Les ribosomes sont constitués de 2 sous-unités de tailles différentes, la petite et la grosse sous-unité qui peuvent se détacher. Ils sont constitués d'ARN (65%) et de protéines (35%).

Il y a des différences entre les ribosomes des procaryotes et des eucaryotes : Procaryotes: coef sed70SEucaryotes: coef sed 80S.

4.4.3. Déroulement de la traduction

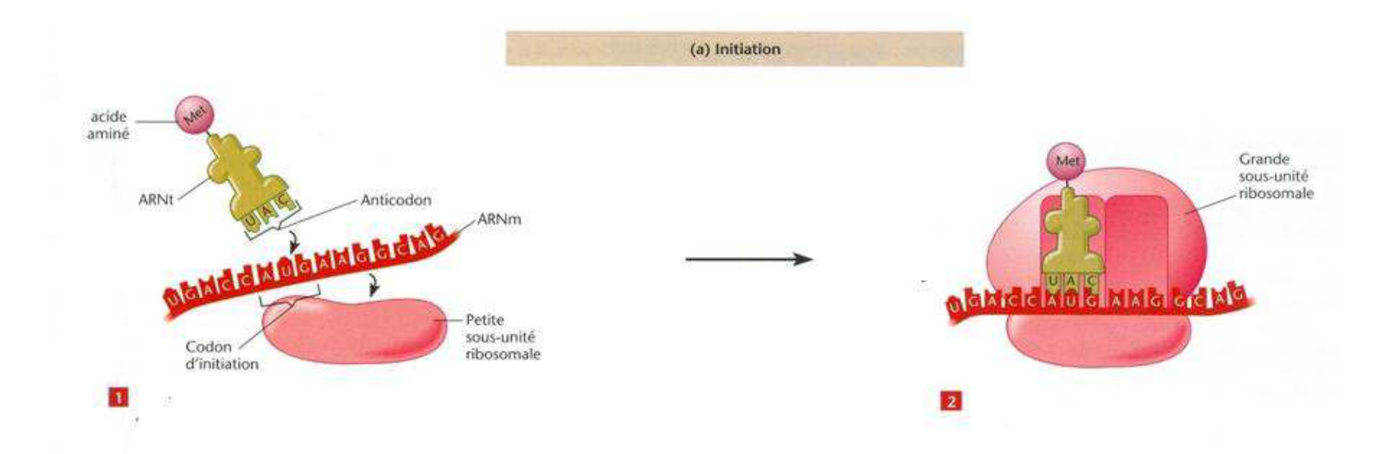
Pendant la traduction, l'information portée par l'ARNm est traduite en une séquence précise d'acides aminés (AA) pour constituer une protéine. C'est un processus qui se déroule au niveau des ribosomes qui s'associent avec l'ARNm pour lire le message et lui faire correspondre les acides aminés selon le code génétique.

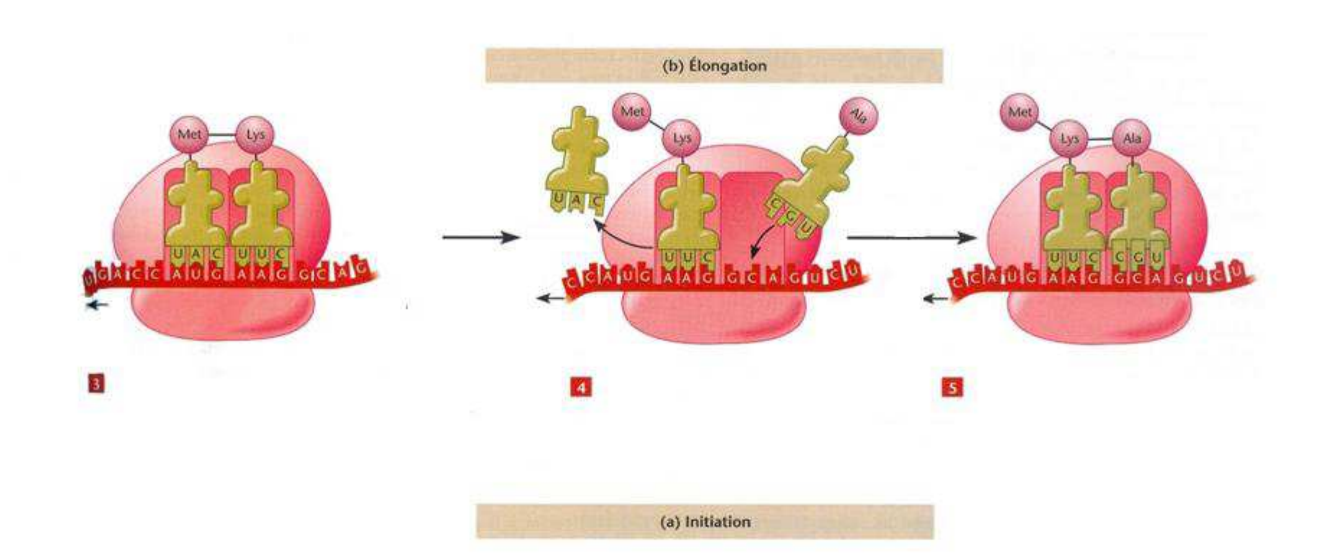


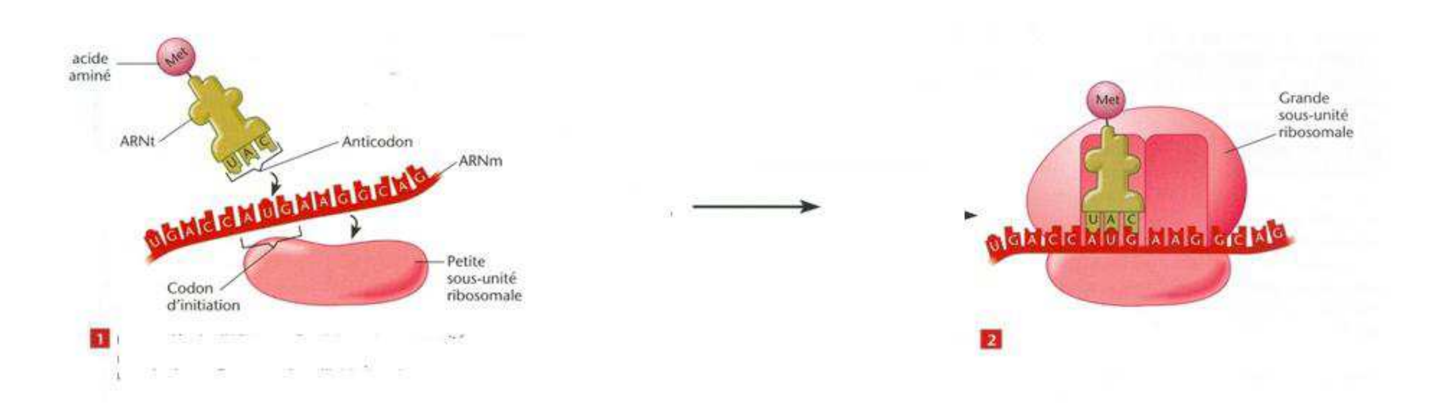
tRNA. Structure secondaire tRNA. Structure tertiaire

La traduction fait intervenir aussi des ARN particuliers dits ARNt. C'est une molécule monocaténaire repliée en forme de trèfle. Elle comprend deux sites importants : un résidu adénine à l'extrémité 3' sur lequel se fixe un acide aminé de manière covalente et un triplet de nucléotides particulier appelé anticodon qui peut reconnaitre et se fixer sur le codon correspondant sur l'ARNm. L'ARNt est donc l'adaptateur qui associe un triplet de l'ARNm avec l'acide aminé correspondant selon le code génétique.

La synthèse d'une chaîne peptidique se fait en 3 étapes: l'initiation, l'élongation et la terminaison. Le schéma suivant résume les principaux événements :


(a) Initiation
acide aminé
Met
ARNt
Anticodon
U A C
ARNm
Codon d'initiation
Petite sous-unité ribosomale
1
Met
Grande sous-unité ribosomale
2


(b) Élongation
Met
Lys
Ala
U A C
U U C
C G U
3
4
5


(a) Initiation
acide aminé
Met
ARNt
Anticodon
U A C
ARNm
Codon d'initiation
Petite sous-unité ribosomale
1
Met
Grande sous-unité ribosomale
2

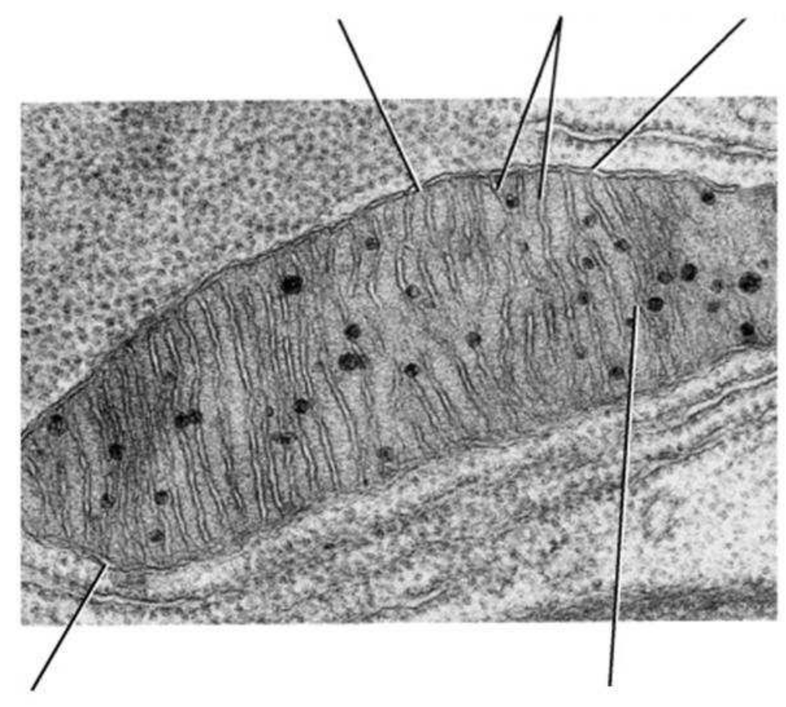
Chapitre 7

Les systèmes de conversion de l’énergie

1. La mitochondrie

1.1. Structure

C’est un organite en forme de bâtonnet (1 à 4 µm de longueur ; 0,3 à 0,7 µm de diamètre). Il est entouré par une double membrane :



- Une membrane externe de 60 Å d’épaisseur, formée de trois feuillets, 60% protéines/ 40% lipides
- Une membrane interne de 60 Å d’épaisseur plus riche en protéines (80%) et imperméable à la diffusion de H^+ (protons).
- Un espace intermembranaire d’environ 100 Å de largeur sépare les deux membranes.

La membrane interne a une surface plus grande par rapport à l’externe. Elle forme des replis vers l’intérieur appelés crêtes mitochondriales et qui sont généralement perpendiculaires au grand axe de la mitochondrie. La surface des crêtes du côté de la matrice est tapissée de « sphères » de 90 Å de diamètre qui sont reliées à la crête par un pédoncule : il s’agit d’ATP synthase qui catalyse la synthèse d’ATP.

L’intérieur de la mitochondrie est occupé par une substance fondamentale appelée matrice. Elle comprend de l’eau, des sels minéraux, différentes molécules organiques et des enzymes. On distingue aussi des granules denses de 300 Å environ (accumulations de cations).

La matrice comprend aussi une molécule d’ADN de forme circulaire (ADNmt) et des mitoribosomes. La mitochondrie synthétise certaines de ses propres protéines (environ 20%). Mais reste dépendante de

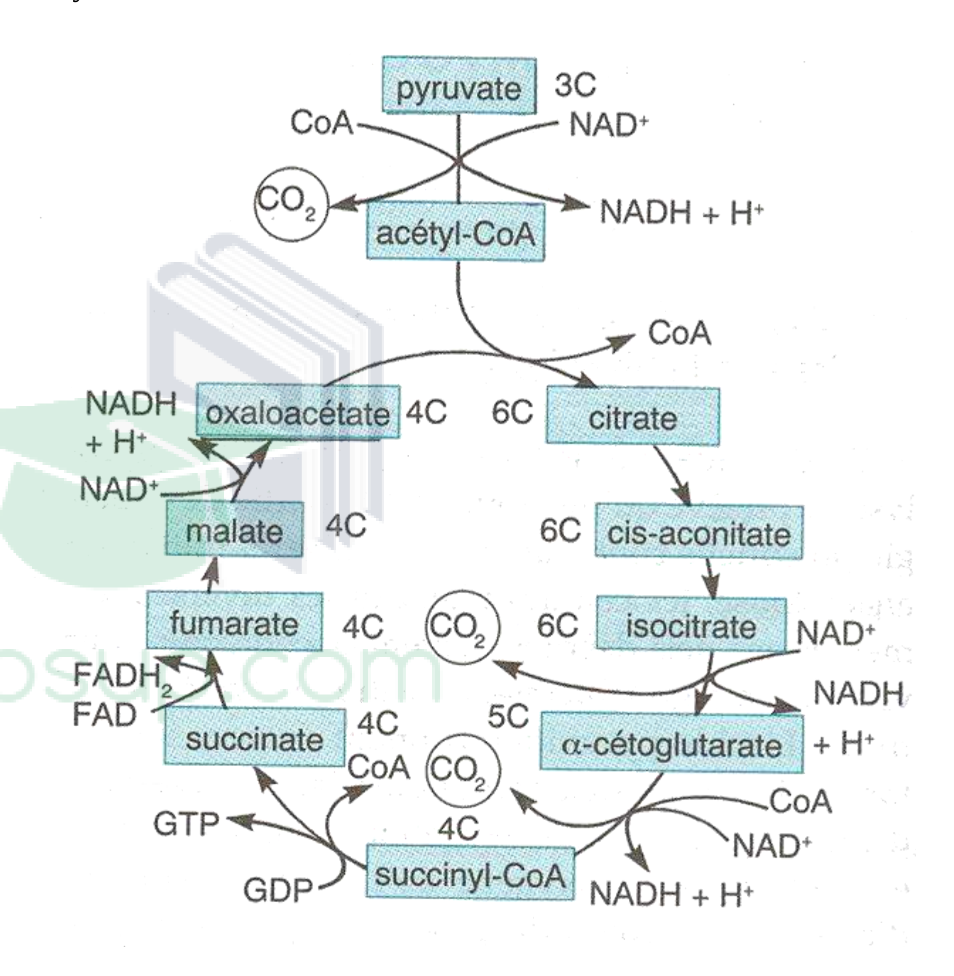
l'ADN nucléaire pour la synthèse de la plupart de ces protéines : On dit que la mitochondrie est un organite semi-autonome.

1.2. Principale activité métabolique : la respiration cellulaire

Il s'agit d'un ensemble de réactions de dégradation de la matière permettant à la cellule de produire de l'énergie (ATP) avec absorption d'O2 et dégagement de CO2. On peut la diviser en trois étapes qui fonctionnent simultanément.

Première étape: oxydation des substrats ou cycle de Krebs

C'est un ensemble de réactions en forme de cycle se déroulant dans la matrice. Il est alimenté principalement par le pyruvate ou l'acetyl-CoA et se déroulant au niveau de la matrice mitochondriale.



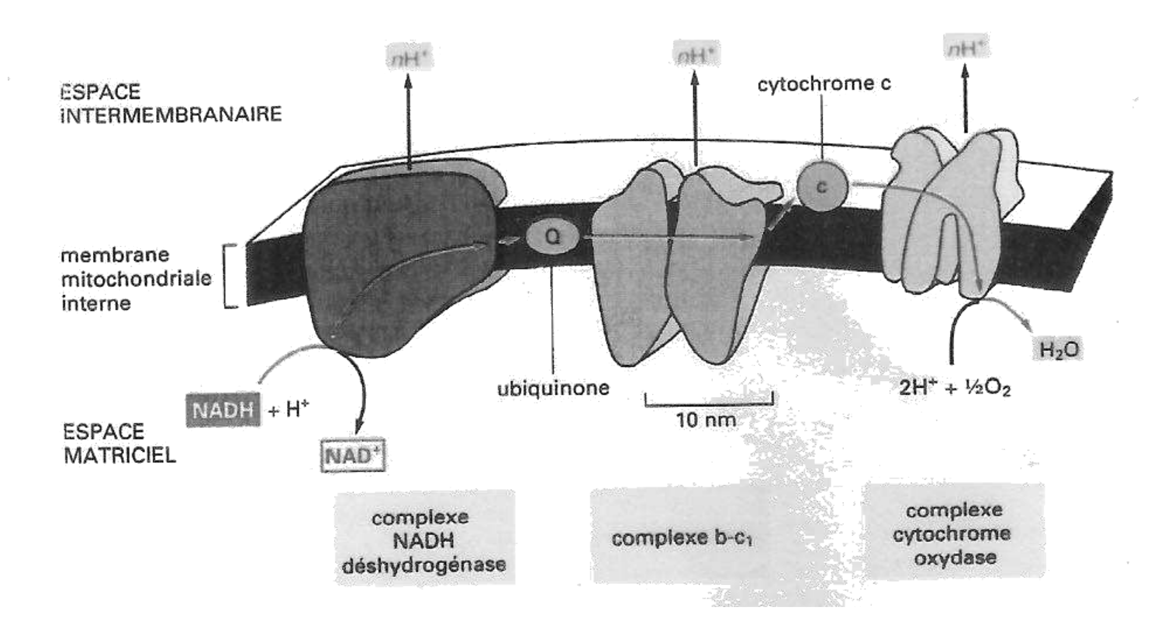
La matière organique subit des oxydations par se font par perte d'H_2 (déshydrogénation) pour former des NADH,H^+ et des $FADH_2$ tout en se dégageant sous forme de CO_2.

Le bilan de l'oxydation de l'acide pyruvique et d'un Cycle de Krebs est le suivant:

- ✓ 4 NADH,H^+
- ✓ 1 FADH2
- ✓ 1 GTP

Deuxième étape: chaîne respiratoire

C'est une voie métabolique de déroulant au niveau de la membrane interne de la mitochondrie. Les enzymes impliquées dans cette voie constituent trois grands complexes intégrés dans la membrane et séparés par deux facteurs mobiles :



Les trois complexes sont :

- Complexe NADH déshydrogénase : gros complexe formé de 22 chaînes protéiques.
- Complexe cytochrome b-c 1 : protéines comprenant un atome de fer ou de cuivre comme transporteur d'électrons.
- Complexe cytochrome oxydase

La chaîne respiratoire débute par la déshydrogénation du $NADH,H^+$ par le complexe NADH déshydrogénase dans la membrane interne mitochondriale :

- $NADH,H^+ \rightarrow NAD^+ + 2H^+ + 2e^-$

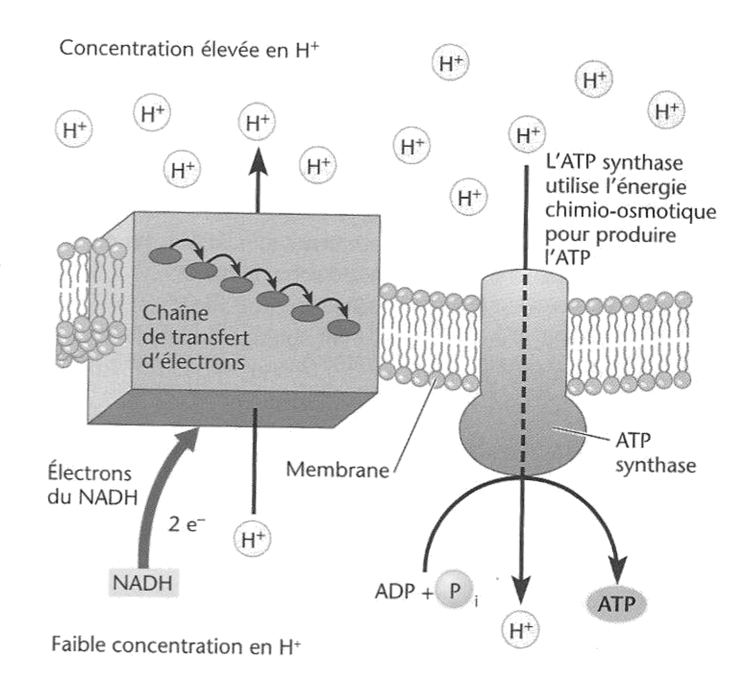
Les électrons seront transportés le long de la chaîne respiratoire à travers les différents complexes jusqu'à l'accepteur final qui est l'oxygène alors que Les protons H+ sont pompés vers l'espace intermembranaire.

$2H^+ + 2e^- + \frac{1}{2} O_2 \rightarrow H_2O$

Troisième étape: formation d'ATP: phosphorylation oxydative

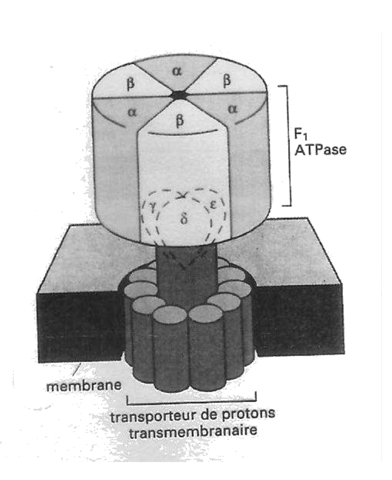
Lors du transport d'électrons à travers chacun des trois complexes enzymatiques respiratoires, une chute importante de l'énergie est enregistrée qui est utilisée pour le pompage de protons (H^{+}) de la matrice vers l'espace intermembranaire.

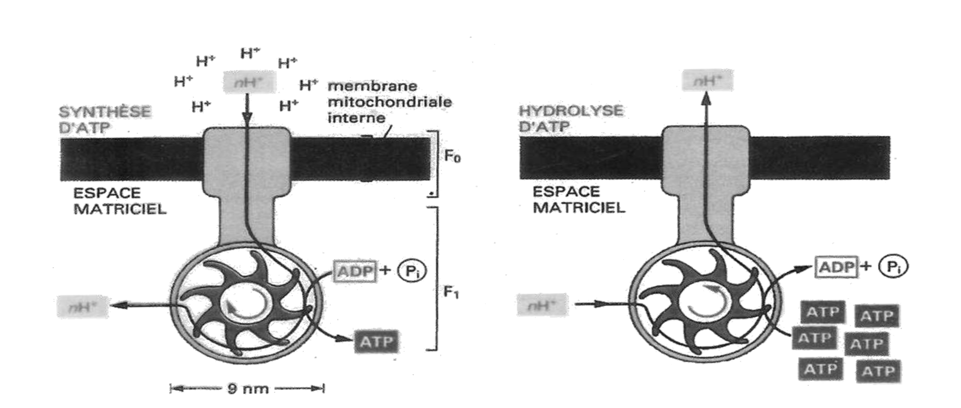
Ce transport actif de protons met en place un gradient électrochimique de protons à travers la membrane interne : l'espace intermembranaire est plus concentré en H^+ (gradient chimique) et plus (+) (gradient électrique) que ne l'est la matrice qui a une concentration moindre en protons, donc une charge plus (-). Ce gradient favorise le retour des H^+ dans la matrice à travers les canaux à protons au niveau des sphères (ATP synthase) liées à la membrane interne et donnant sur la matrice.



L'ATP synthase utilise l'énergie du flux protonique pour synthétiser l'ATP à partir d'ADP et Pi dans la matrice. ADP + Pi + énergie → ATP

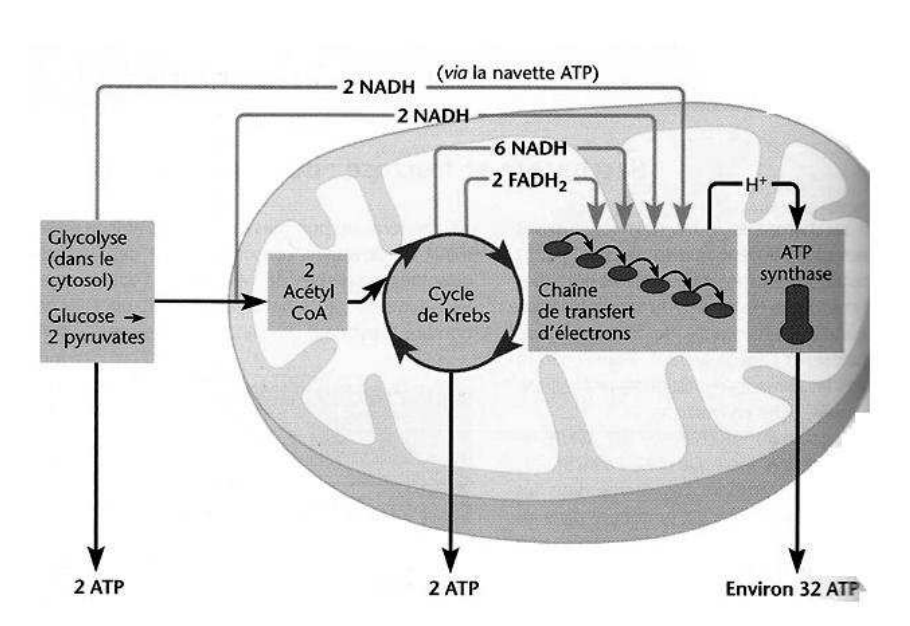
C'est la phosphorylation oxydative puisque l'énergie provient des H_2 des substrats par oxydation





Bilan général de la respiration

A compléter en cours



2. Le Chloroplaste

2.1. Structure et caractéristiques

C'est un organite de forme: lenticulaire de 3-10 µm de diamètre et 1-2 µm d'épaisseur et de couleur verte sous microscope optique à cause de sa richesse en chlorophylle.

L'ultrastructure du chloroplaste montre qu'il est entouré de deux membranes sans pigments (60Å d'épaisseur; protéines 60%/ lipides 40%).

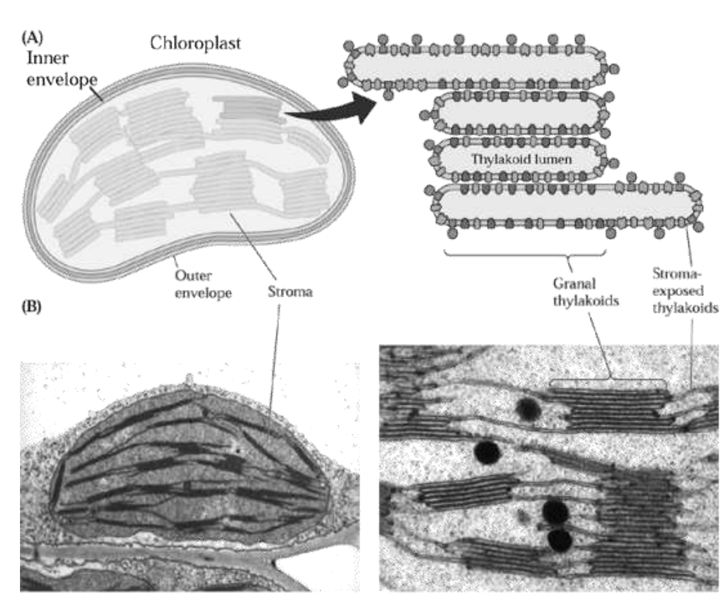


La membrane interne est invaginée vers l'intérieur pour former des thylacoïdes, sacs membranaires aplatis et clos, disposés parallèlement au grand axe du chloroplaste et riches en pigments. Il y a 2 types de thylacoïdes:

- ✓ -thylacoïdes du stroma très allongés
- ✓ -thylacoïdes des granums, petits de forme discoïde, empilés entre les thylacoïdes du stroma

La membrane des thylacoïdes porte sur sa face interne des-sphères identiques à celles de la mitochondrie du côté du stroma (ATP synthase). La couleur verte de ces membranes est due à la présence de complexes de pigments intégrés appelés photosystèmes.

Les thylacoïdes baignent dans une substance fondamentale appelée Stroma. Elle comprend de l'eau, des ions et différentes molécules organiques dont des enzymes.



Le chloroplaste comprend aussi un génome (ADNct) et des plastoribosomes : c'est un organite semi-autonome.

2.2. Activité métabolique du chloroplaste : la photosynthèse

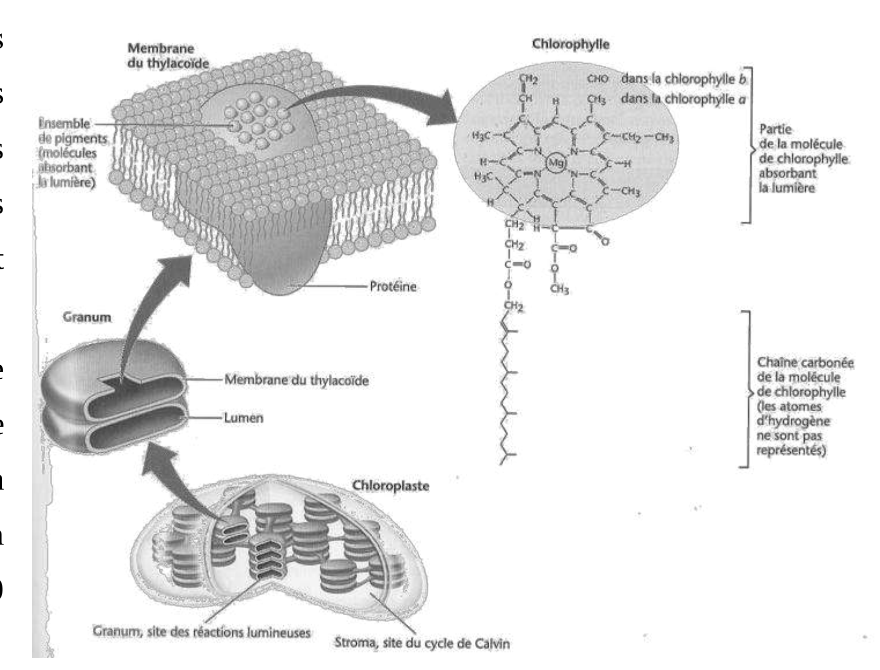
2.2.1. Définition de la photosynthèse

La photosynthèse est la synthèse de molécules organiques à partir du CO2 en utilisant la lumière comme source d'énergie.

- La photosynthèse s'accompagne d'échanges gazeux : CO_2 est absorbé et O_2 est dégagé.

2.2.2. Les pigments photosynthétiques

La capture de la lumière pour la photosynthèse nécessite la présence de substances colorées capables d'absorber la lumière appelées pigments photosynthétiques. Il y a des pigments principaux représentés par les Chlorophylles (a et b) et des pigments accessoires (caroténoïdes et phycobellines).



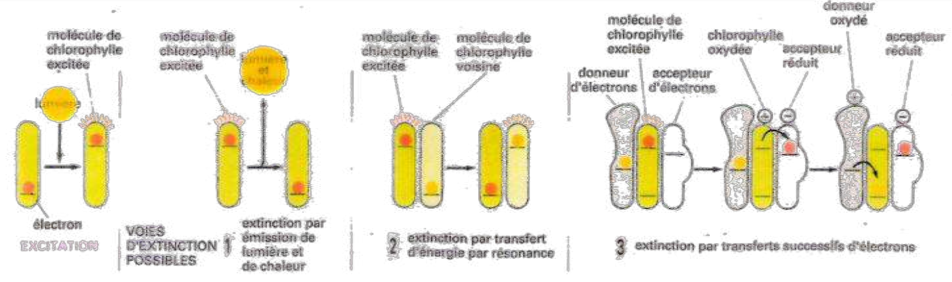
Les chlorophylles ont un pôle hydrophile contenant un atome de Mg et un pôle hydrophobe: le phytol (chaîne carbonée à 20 C). Leur spectre d'absorption comprend 2 pics respectivement à 650 nm (rouge) et 450 nm (bleu).

Les caroténoïdes sont des pigments liposolubles jaunes-oranges formés d'une chaîne carbonée avec des cycles aux deux extrémités. Son pic d'absorption est à 500nm (vert).

Tous ces pigments sont groupés dans des complexes appelés photosystèmes : Ces derniers sont de deux types : PSI et PSII.

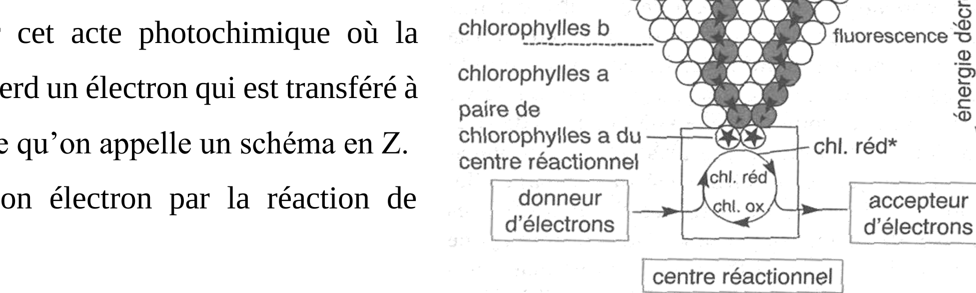
2.2.3. Capture de l'énergie lumineuse : la phase claire

L'énergie lumineuse est captée par pigments photosynthétiques. L'absorption d'un photon par la molécule provoque la délocalisation d'un électron de son orbite vers l'orbite supérieure : on dit que la molécule est excitée. L'énergie de l'excitation est libérée à nouveau de trois manières : émission de lumière ou de chaleur, transfert de l'excitation par résonnance et enfin ionisation par émission de l'électron.



Le photosystème est formé d'antennes collectrices qui

absorbent la lumière pour la transférer de molécule à molécule, et un centre réactionnel formé de chlorophylle a qui réalise l'ionisation considéré comme un acte photochimique.



La phase claire débute par cet acte photochimique où la molécule de chlorophylle a perd un électron qui est transféré à différents accepteurs selon ce qu'on appelle un schéma en Z.

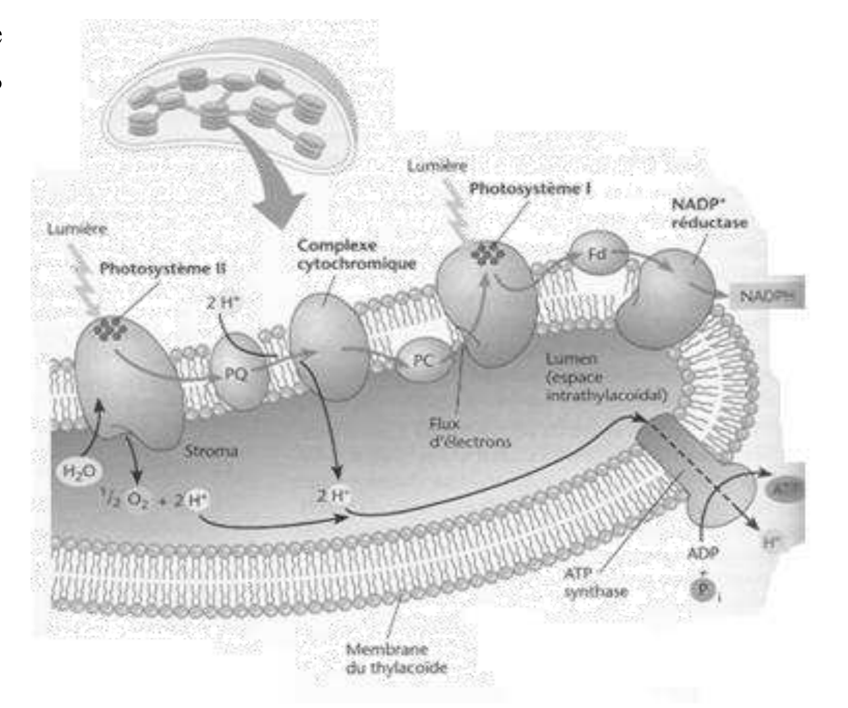
La chlorophylle récupère son électron par la réaction de photolyse de l'eau

: $H_2O \rightarrow 2H^+ + 2e^- + \frac{1}{2} O_2$

Le schéma en Z permet la formation de l'ATP la réduction d'un $NADPH_2$: l'énergie lumineuse est transformée en énergie chimique.

Comment se fait la synthèse de l'ATP ?

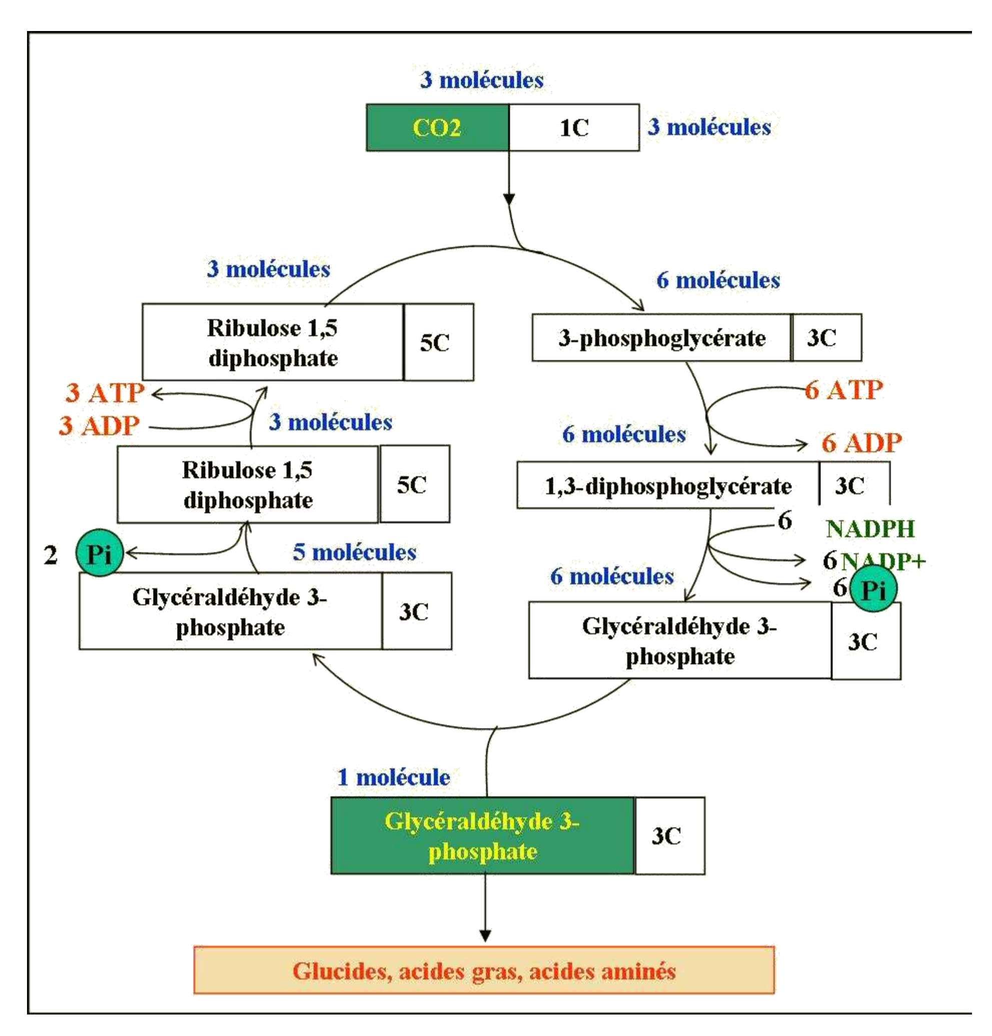
Au cours du transfert des électrons ; les protons sont pompés vers l'intérieur du thylacoïde ce qui crée un gradient de pH qui active l'ATP synthase : c'est la photophosphorylation.



2.2.4. Réduction du CO_2 : phase sombre

Cette phase a lieu dans le stroma utilise les produits de la phase claire sont nécessaires pour la synthèse des glucides : c'est le cycle de Calvin.

Le CO_2 est intégré dans une molécule organique par l'enzyme la plus abondante chez les végétaux qui est la Rubisco. Ce CO2 est ensuite réduit grâce au NADPH2 et à l'ATP pour le transformer en glucide.



3. Comparaison entre les deux types de phosphorylations

Voir cours

Chapitre 8

Les systèmes endoembranaires

1. . Ultrastructure

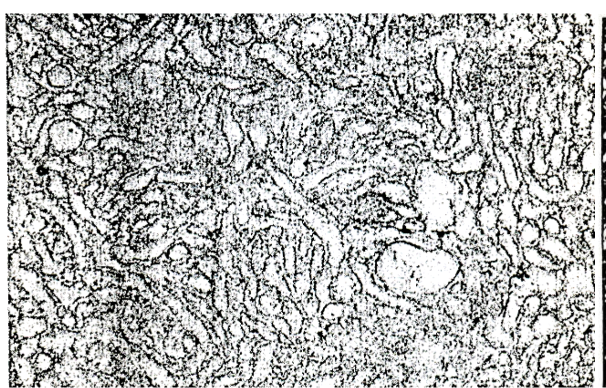
1.1. Reticulum endoplasmique

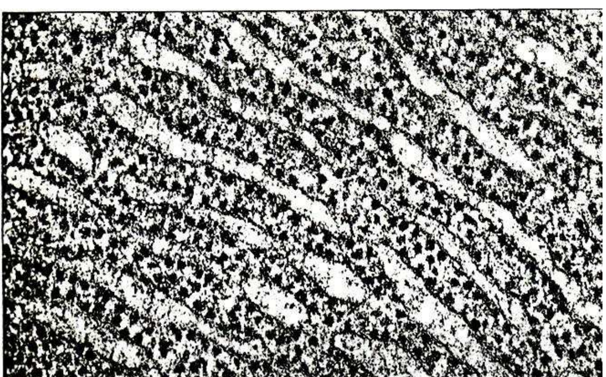
C'est un ensemble complexe de membranes délimitant des cavités closes ou citernes et comportant 2 faces: la face hyaloplasmique tournée vers le cytosol.et la face luminale: tournée vers la lumière des citernes.

Le Reticulum endoplasmique existe sous 2 formes : : le RE rugueux ou granulaire ou ergastoplasme qui porte des ribosomes sur sa face hyaloplasmique (face externe) et le RE lisse ou agranulaire (R.E.L) qui ne porte pas de ribosomes. Il peut être en continuité avec le R.E.R.

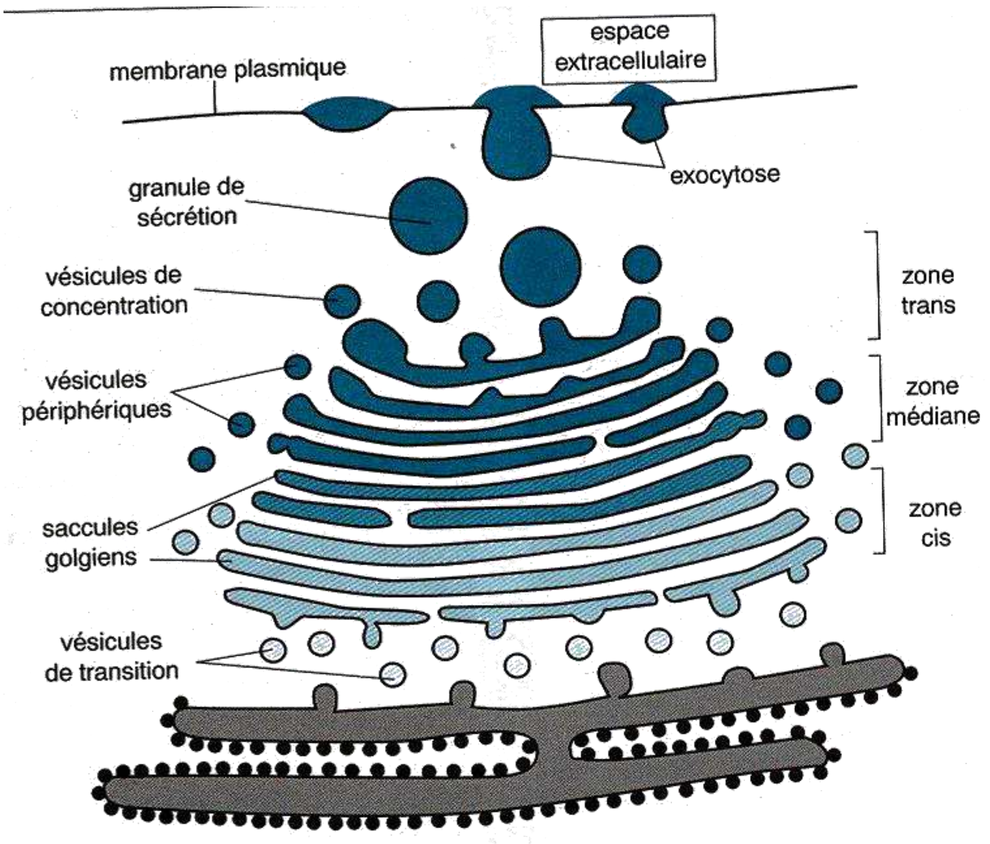
Les deux systèmes sont en continuité.

— *Reconstitution tridimensionnelle du système endomembranaire.*
(Extrait de « Atlas de Biologie Cellulaire » de J. C. Rolland et A. et D. Szöllösi.)





1.2. Appareil de Golgi



C'est un ensemble de structures membranaires appelées
Le dictyosome. se présente sous l'aspect d'une pile de saccules aplatis empilés les uns sur les autres et sont séparés par une mince bande de hyaloplasme de 200 Å. d'épaisseur avec des vésicules étroitement associées. Il est constitué de membranes lisses (sans ribosomes) de 60 à 75 Å d'épaisseur qui délimitent des cavités aplaties ou saccules.
L'AG présente 3 compartiments, contenant chacun au moins 2 saccules ou citernes :

- Un compartiment cis, tourné du côté du RER avec lequel il établit des interrelations par des vésicules de transition. Il correspond à la face de formation ou face externe.
- Un compartiment médian qui comporte quelques saccules régulièrement empilés.
- Un compartiment trans, prolongé le plus souvent par de très nombreuses vésicules. Il correspond à la face de maturation ou face interne.

2. Rôles physiologiques

2.1. Métabolisme des lipides

Les membranes du réticulum possèdent tout l'équipement enzymatique nécessaire pour faire de nombreuses réactions du métabolisme des lipides.

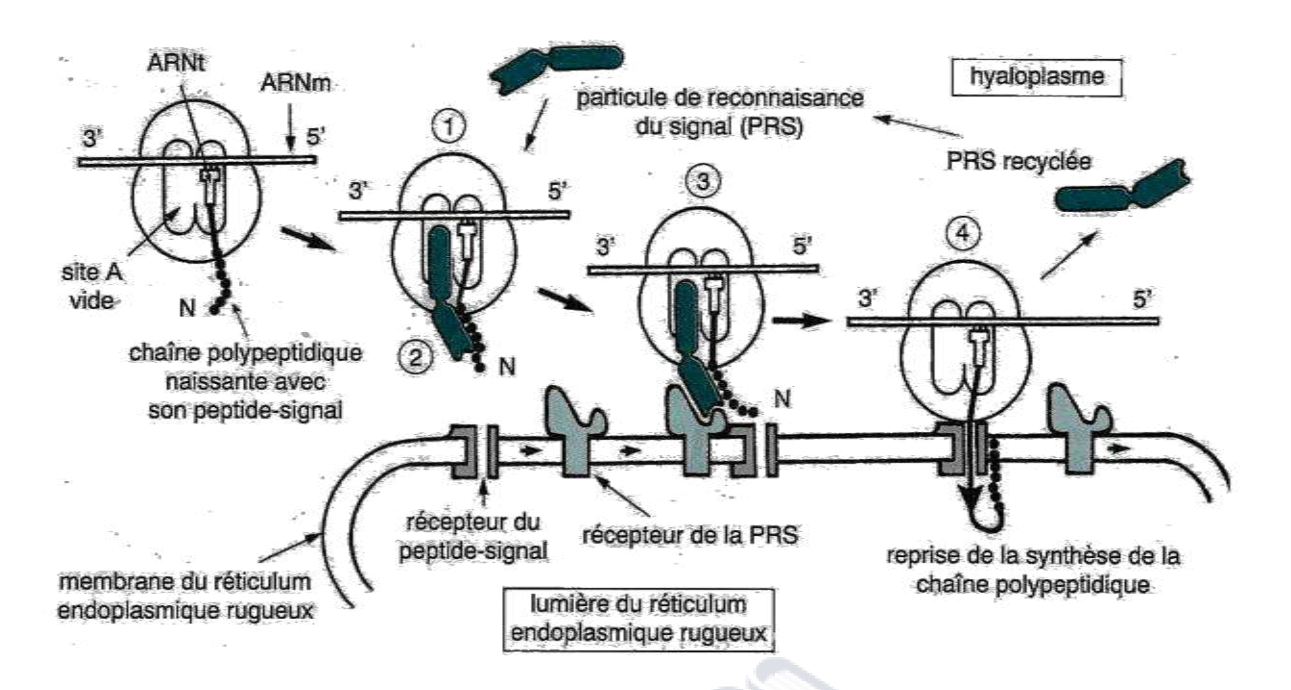
- La biosynthèse des phospholipides pour le renouvellement des membranes. La synthèse se fait par élongation et désaturation à partir d'acides gras simples présents dans le hyaloplasme.
- La biosynthèse des triglycérides est effectuée par le R.E.L. Par ex: des cellules situées sous la peau (adipocytes) et dont la fonction est de stocker des lipides possèdent un R.E.L abondant.
- La biosynthèse du cholestérol s'effectue surtout dans les hépatocytes où un important REL est développé.
- La synthèse des hormones stéroïdes à partir du cholestérol (testostérone, progestérone, cortisone) a lieu aussi au niveau du R.E.L.

2.2. Synthèse, routage et modificatons posttraductionnelles

2.2.1. Transfert de chaînes polypeptidiques dans les cavités du RE: théorie du peptide-signal

Les ribosomes attachés aux membranes du réticulum endoplasmique synthétisent des protéines qui, au cours de leur élongation, ne restent pas dans le hyaloplasme mais sont dirigés vers différentes autres destinations.

Les chaînes polypeptidiques transférées dans les cavités du RE sont caractérisées par l'existence d'une séquence hydrophobe située en début de chaîne appelée séquence-signal ou peptide-signal.



- Cette séquence apparaît en premier et attire une particule SRP se trouvant dans le cytoplasme.qui se fixe sur la séquence et sur le site P du ribose bloquant ainsi provisoirement la synthèse.
- La SRP se fixe sur un récepteur de la particule SRP qui se trouve sur la membrane du RER et qui permet la fixation du ribosome sur cette membrane.
- Dès que le complexe ribosome + particule SRP se fixent sur le récepteur de la SRP, la séquence-signal va s'associer à des protéines de la membrane et les rapprocher les unes des autres pour former un tunnel. Ces protéines du tunnel sont également les récepteurs spécifiques sur lesquels vont s'attacher la grosse sous-unité, 60S du ribosome.
- Au fur et à mesure que le peptide est synthétisé, il traverse le tunnel et passe dans la cavité. La séquence-signal est alors excisée par une enzyme: la signal-peptidase (hydrolase).
- Lors de la terminaison (fin de la synthèse protéique), le polypeptide dépourvu de son peptide-signal est libéré dans la cavité du R.E.R.
- Le ribosome se détache de la membrane et de l'ARNm.
- N'étant plus tenues par la grosse sous-unité 60S, les protéines du tunnel diffusent dans la bicouche lipidique et se séparent les unes des autres, ce qui entraîne la disparition du tunnel.

Les protéines synthétisées peuvent avoir plusieurs destinées en fonction des signaux de routage qu'ils portent : membranes ; protéines secrétées, enzymes des lysosomes et autres.

2.2.2. Glycosylations

Ce sont des réactions enzymatiques qui s'effectuent dans les membranes du réticulum endoplasmique. Ces réactions, catalysées par des enzymes membranaires spécifiques appelées:les glycosyl-transférases, consistent en l'addition d'oligosaccharides à une protéine ou à un lipide formant une glycoprotéine ou un glycolipide.

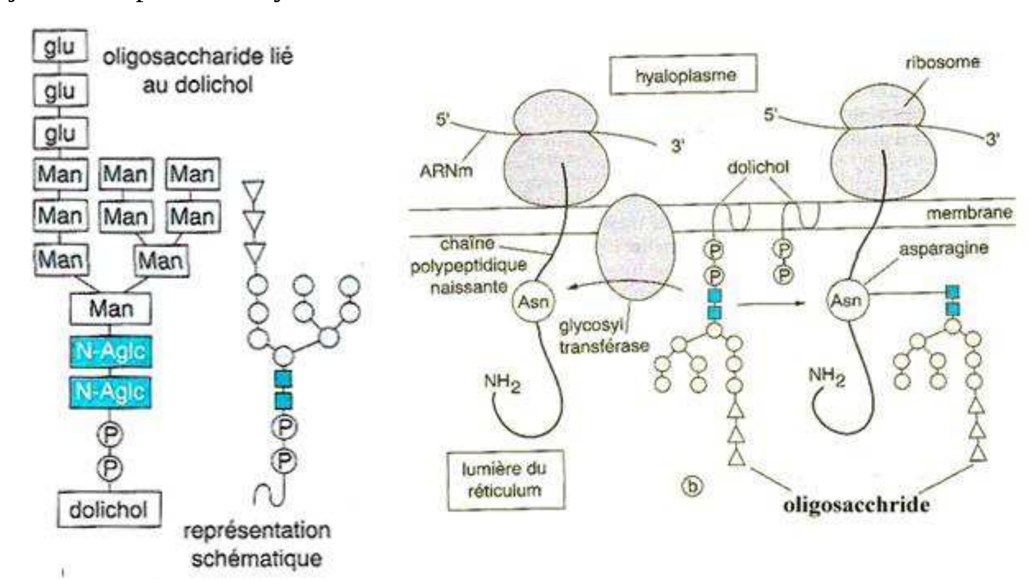
Elles commencent dans le R.E.R et se poursuivent dans le dictyosome où les molécules formées (les glycoprotéines et glycolipides) peuvent subir des modifications.

2.2.2.1. La N-glycosylation

Au niveau du RE, une seule espèce d'oligosaccharide, constituée de N-acétylglucosamine, de mannose et de glucose, est ajoutée à la majorité des protéines synthétisées.

L'oligosaccharide ajouté est normalement lié à un lipide membranaire, le dolichol.

L'addition de l'oligosaccharide se fait au niveau du groupement amine (NH2) de l'Asparagine de la protéine synthétisée d'où le nom de N-glycosylation.



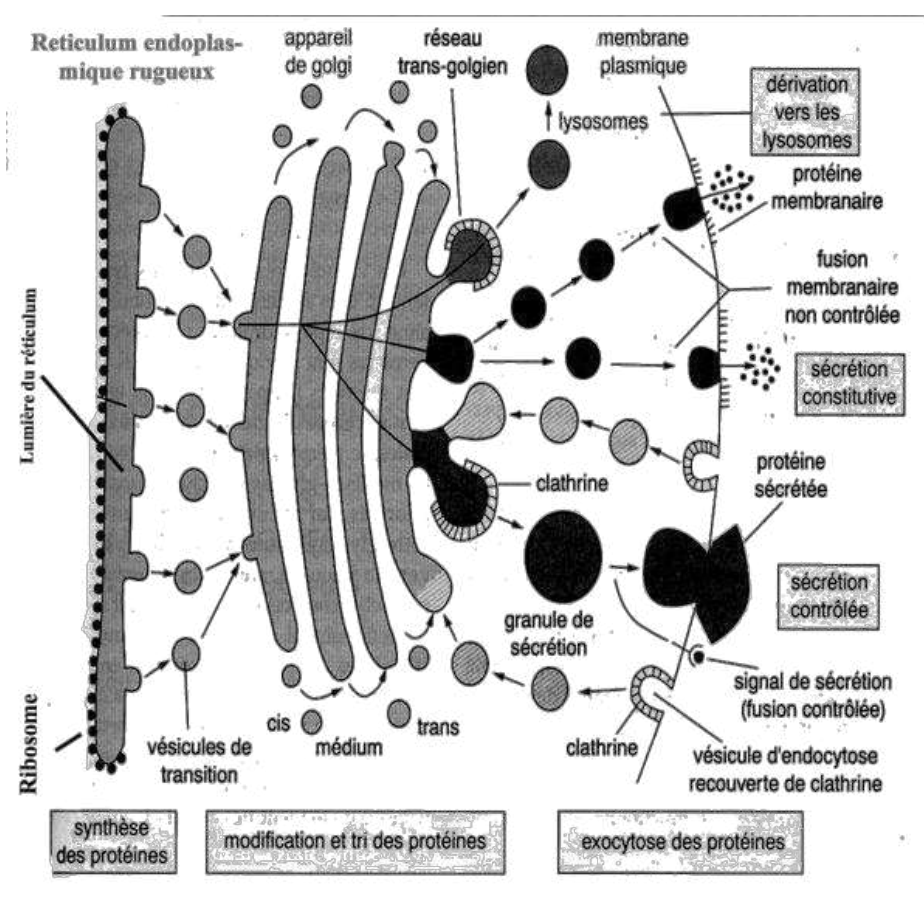
La protéine subit une première modification par éliminationn de quelques motifs glucidiques avant de quitter le réticulum puis elle peut subir des modifications similaires dans l'appareil de Golgi.

2.2.2.2. La O-glycosylation

Ces glycosylations s'effectuent uniquement au niveau de l'appareil de Golgi. La protéine, synthétisée au niveau du réticulum rugueux, reçoit des glucides au niveau de l'oxygène de certains acides aminés comme la lysine et la thréonine chez les animaux ou l'hydroxyproline chez les animaux. Ces glycosylations mènent soit à des protéines à faibles quantités de glucides appelées glycoprotéines ou des protéines à fortes quantités de glucides appelées protéoglycanes.

2.2.3. Tri des protéines

Après leur synthèse, les protéines sont transférées dans les cavités du RER. Certaines peuvent rester dans le réticulum si elles sont spécifiques. Les autres sont transportées dans les cavités de l'appareil de Golgi par les vésicules de transition. A ce niveau, les protéines subissent beaucoup de modifications posttraductionnelles puis elles sortent de ce compartiment par bourgeonnement de vésicules. Chaque cellule porte un signal de routage et d'adressage qui détermine sa destination. Ces protéines ont trois destinées possibles :



- Les vésicules qui subissent l'exocytose contribuent au renouvellement de la membrane à travers le contour de la vésicule qui fusionne avec la membrane et apporte une zone neuve.
- Sécrétion des protéines à l'extérieur de la cellule. Ces sécrétions sont de deux catégories : des sécrétions continues ou constitutives et des sécrétions contrôlées qui se font suit à des signaus reàus par les cellules. Dans ce dernier cas, les vésicules sont enveloppées de clathrine.
- Formation des lysosomes qui restent dans la cellule.

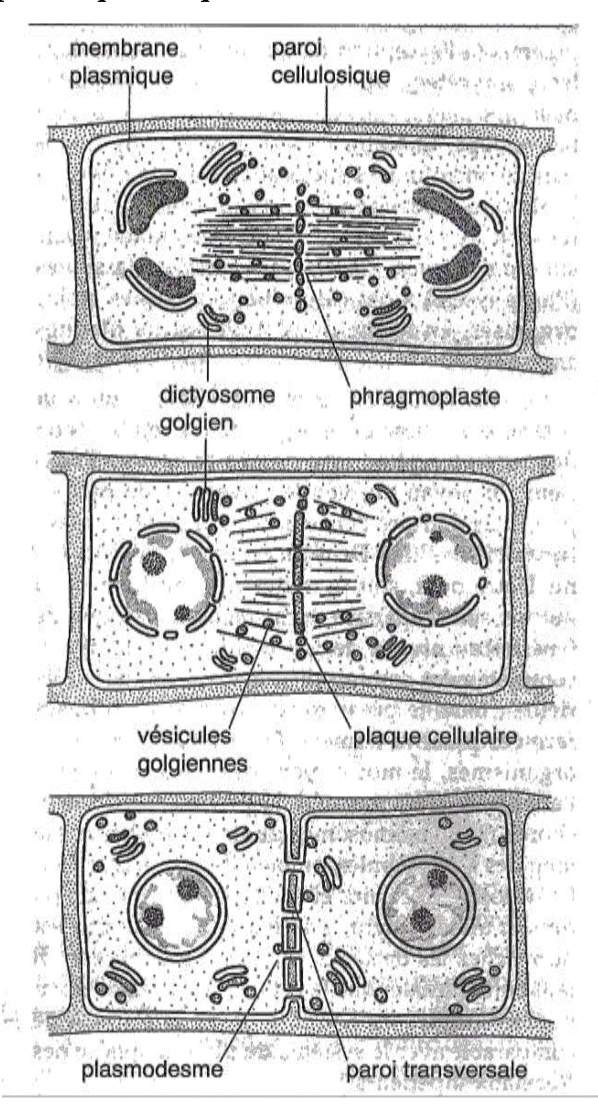
2.3. La détoxication

La membrane du réticulum endoplasmique lisse contient des enzymes qui catalysent une série de réactions de détoxication des substances liposolubles et des composés dangereux produits par le

métabolisme (drogues, médicaments et autres) Ces réactions de détoxication sont catalysées par les cytochromes P450.

2.4. Synthèse de polysaccharides et formation de la paroi squelettique.

A la fin de la télophase, des vésicules golgiennes se positionnent à l'équateur de la cellule et commencent et commencent à fusionner. Leur membrane constitue des partiee de membranes plasmiques permettant séparer les cellules filles. Le contenu apporte les matériaux nécessaires à a constitution de la paroi (polysaccharides de type pectines et hémicelluloses ; protéines enzymatiques). La cellulose est par la suite formée directement au niveau de la paroi. Ces processus permettent la séparation des deux cellules filles.



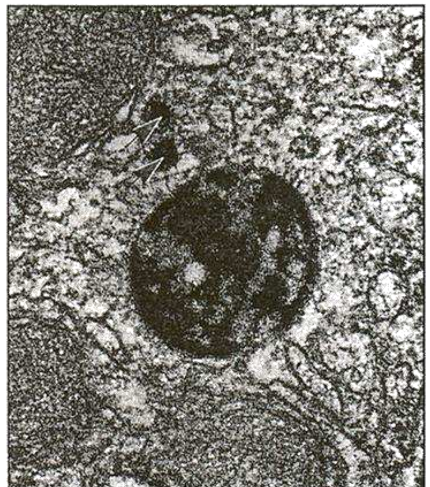
3. Les lysosomes

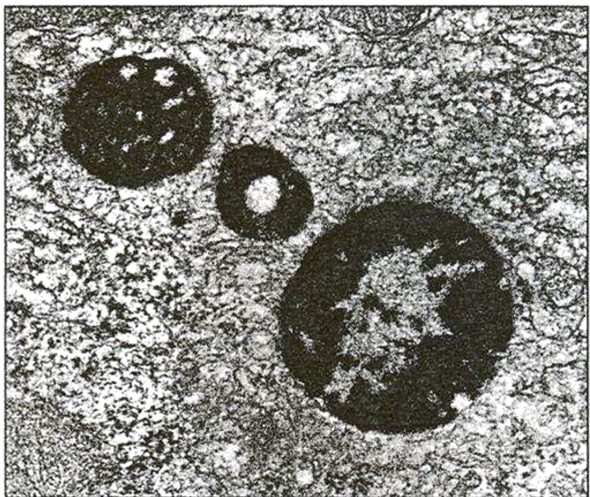
3.1. Structure

Ce sont des vésicules qui renferment un mélange d'hydrolases (enzymes digestives) formées par fusion de vésicules golgiennes.

Ils sont associés à la digestion intracellulaire d'éléments absorbés par les cellules grâce à l'endocytose. Ils peuvent aussi être impliqués dans des cas beaucoup plus rares de digestion extracellulaire par émission d'enzymes de dégradation vers l'extérieur pour dégrader des substrats et absorber des produits de la dégradation par endocytose.

Ce sont des vésicules limitées par une membrane simple et lisse de 7,5nm d'épaisseur et 0,5 µm de diamètre, parfois plusieurs µms. Le contenu de la lumière, amorphe ou granulaire, est en général très hétérogène.



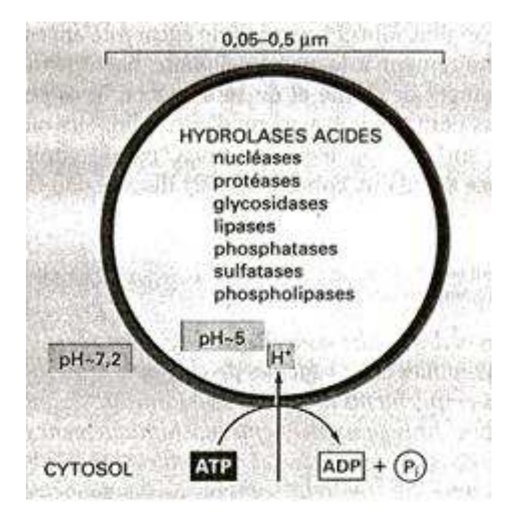


Les lysosomes contiennent plus de 50 d 'enzymes: Protéases, nucléases, glycosidases, lipases, phosphatases... Ce sont des hydrolases, capables de dégrader la plupart des composés organiques connus, et dont l'activité optimale se situe à des Ph entre 6 et 8.

Ils sont impliqués dans des fonctions de digestion de substrats variés d'origine intra ou extracellulaire.

La membrane des lysosomes doit être résistante aux enzymes contenues dans la lumière, afin de protéger le cytoplasme de l'attaque de ces dernières :

- Elle contient une protéine fonctionnant comme une pompe à protons (H+) ATP dépendante. Cette pompe doit permettre le passage des ions H+ de façon à maintenir un pH acide.



Les lysosomes.
Les hydrolases acides sont des enzymes hydrolytiques actives dans des conditions acides. La lumière est maintenue à un pH acide par une ATPase à H^+ dans la membrane, qui pompe les H^+ dans le lysosome.

- Elle est plus perméable aux composés hydrophiles que la plupart des membraness cellulaires internes.
- Elle contient de nombreuses protéines porteuses, ce qui facilite la diffusion des divers métabolites.
- Elle doit permettre la sortie vers le cytosol des produits résultant de la digestion effectuée à l'intérieur du lysosome,ce qui implique la présence de perméases.
- Elle présente une capacité à résister aux attaques enzymatiques. Les mécanismes ne sont pas encore connus, mais il semble que la membrane du lysosome soit protégée de l'intérieur par un revêtement glycoprotéique qui forme un véritable manteau protecteur.

Quand une vésicule contenant des nutriments et formée par endocytose fusionne avec un lysosome I aire, il y a constitution d'un lysosome II aire .

3.2. Rôles physiologiques

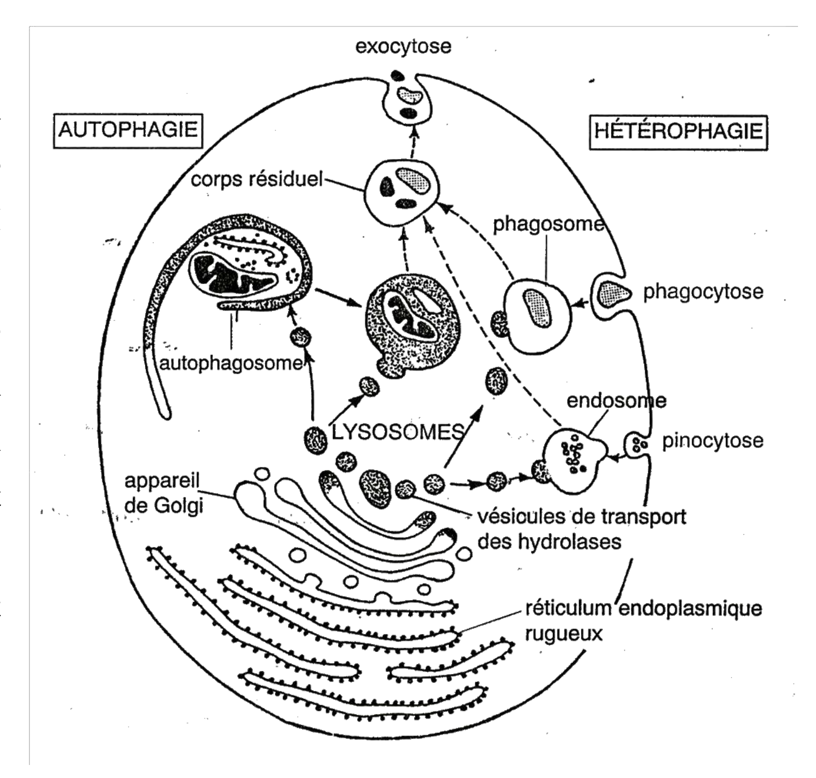
On distingue 2 types de digestion intracellulaire l'autophagie ou digestion de substrats d'origine interne et l'hétérophagie ou digestion de substrats d'origine externe.

3.2.1. Rôle dans la digestion intracellulaire

3.2.1.1. L'autophagie

Elle consiste dans la digestion par les lysosomes, de matériel internes aux cellules elles-mêmes. Elle se caractérise par la présence de gros lysosomes II aires remplis de débris d'organites et qui sont en cours de digestion. On parle de vacuoles autophagiques ou autophagosomes Elle permet la destruction de vieux organites et l'autodestruction des cellules mortes.

Elle contribue au renouvellement constant des organites et au recyclage de la matière vivante.



3.2.1.2. L’hétérophagie

Elle est associée aux fonctions de nutrition et de protection contre des organismes extérieurs.

Ex: Globules blancs = macrophages spécialisés dans la défense de notre organisme.

Lorsque la bactérie est présente dans le milieu, le macrophage émet dans la direction de celle-ci des pseudopodes(fines bandes de cytoplasme) qui l’enveloppe.

Les pseudopodes se rejoignent, et la bactérie est alors enfermée dans une vésicule d ’endocytose de grande taille appelée phagosome ou vacuole de phagocytose.

Une autre étape va consister dans la rencontre de plusieurs lysosomes I aires avec le phagosome et après fusion membranaire, le contenu enzymatique de ces lysosomes est déchargé dans la lumière de ce dernier.

On obtient un phagolysosome ou lysosome IIaire , au sein duquel les hydrolases acides vont digérer les substrats absorbés (la bactérie capturée).

Dans ce cas, les lysosomes jouent un rôle dans la défense de l’organisme par digestion des corps étrangers.

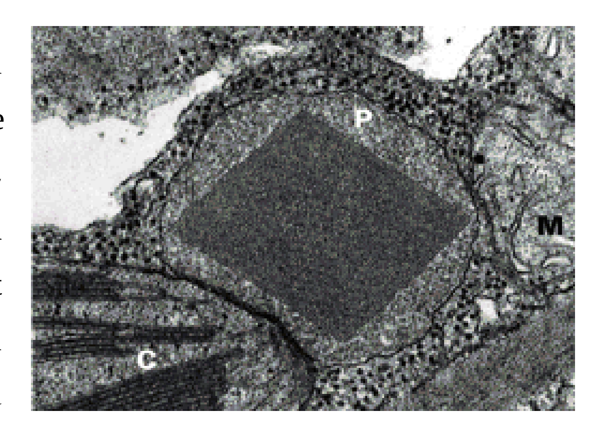
3.2.2. Rôle dans la digestion extracellulaire

C’est l’émission d’enzymes de dégradation vers l’extérieur pour dégrader des substrats et absorber des produits de la dégradation par endocytose.

4. Les Peroxysomes

4.1. Définition et caractéristiques

Ce sont des sortes de vésicules de forme: en général sphérique, avec un diamètre allant de 0,2 à 1,5 µm. Ils se forment par l'invagination de vésicules à partir du RE rugueux. Ils sont Limités par 1 seule membrane de 60Å d'épaisseur. (70 % protéines et 30 % lipides) Ils sont dispersés dans le hyaloplasme et sont parfois associés à d'autres organites (chloroplastes, mitochondries) ou inclusions cytoplasmiques (globules lipidiques).

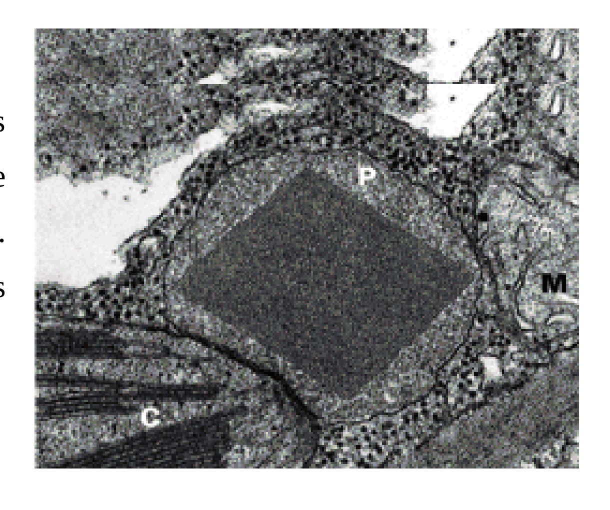


Le peroxysomes renferment une matrice granuleuse avec souvent des inclusions à structure cristalline de nature protéique.

4.2. Fonctions des peroxysomes

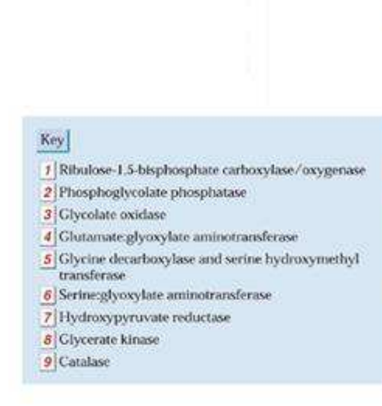
4.2.1. Chez les animaux

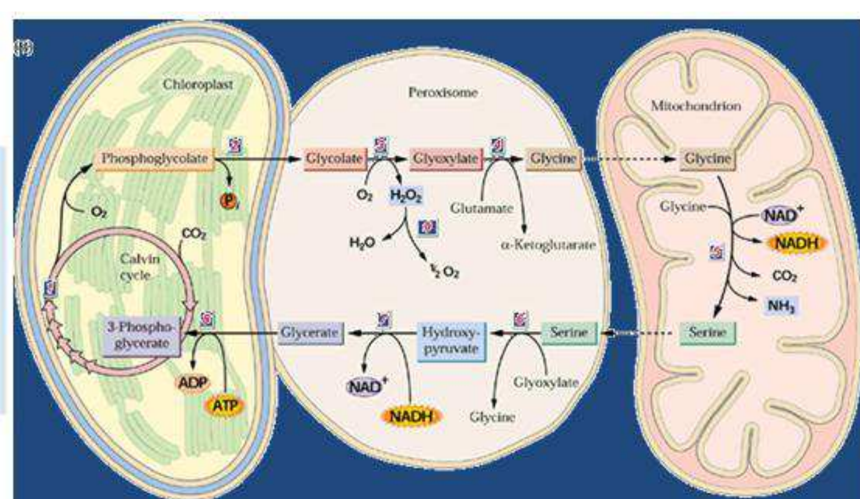
Les peroxyysomes renferment 2 grandes familles d'enzymes : les oxydases: qui catalysent l'oxydation de substrats à partir d'O_2 moléculaire avec production de H_2O_2. Et les catalases:qui décomposent H_2O_2 produite par les oxydases, H_2O_2 et qui est toxique pour les cellules.



$$\mathbf{R_1H2 \quad ° + O_2 \quad \rightarrow R_1 \quad + H_2O_2}$$

$$\mathbf{R_2H_2 \quad ° + H_2O_2 \quad \rightarrow R_2 \quad + H_2O}$$



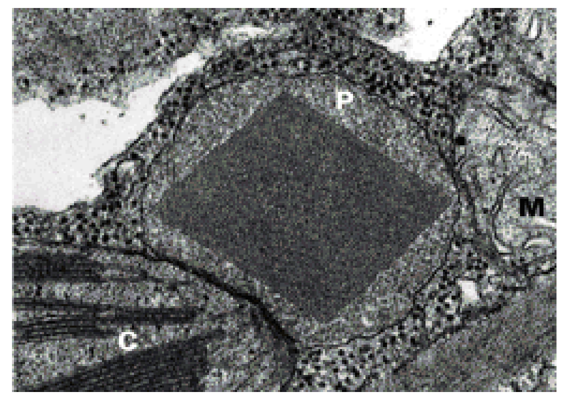


Chez les vertébrés, le catabolisme de l'adénine et de la guanineconduit à la formation d'urée et d'acide glyoxylique (poissons et amphibiens) et d'acide urique (Homme et les oiseaux) les enzymes qui catalysent ces réactions sont des flavoprotéines localisées dans la matrice des peroxysomes.

Le métabolisme des lipides ou β oxydation des acides gras se déroule dans la matrice des peroxysomes et celle des mitochondries.

4.2.2. Chez les végétaux

Dans les peroxysomes des graines oléagineuses en germination, l'acétyl-coA produit par la β-oxydation alimente le cycle glyoxylique en se condensant avec l'acide oxaloacétique d 'une part et l'acide glyoxylique d 'autre part permettant la néoglucogenès (production de glucides à partir des lipides.



La photorespiration est une voie parasite de la photosynthèse pendant le jour. Elle consomme l'oxygène et dégage le CO_2 (comme la respiration) mais sans production d'énergie. La photorespiration commence dans les chloroplastes. Un produit intermédiaire est transporté des chloroplastes vers les peroxysomes pour être ensuite modifié chimiquement.